علم الأحياء الدقيقة

الجراثيم

الجزء الثاني

الطبي والتشخيصي

تأليف

يوسف ابراهيم المشني

الطبعة الثالثة
مزيدة ومنقحه
1998

الناشر
دار المستقبل للنشر والتوزيع
عمان الاردن
ص.ب 184248

الطبعة الأولى 1990

الطبعة الثانية 1994

الطبعة الثالثة 1998

مزيده ومنقحة

دار

المستقبل للنشر والتوزيع

عمان 11118 الأردن

ص.ب. 184248 تلفكس 658263

رقم الايداع 1990/2/109



طبع في مطابع الارز

بسم الله الرحمن الرحيم

مقدمة

تعتبر العلوم المخبرية واحدة من العلوم الطبية المساعدة التي تلعب دوراً مهماً في تشخيص كثير من الحالات المرضية .

وعلم الأحياء الدقيقة (الجراثيم) باعتباره فرعاً من فروع العلوم المخبرية يسهم بفاعلية كبيرة في تشخيص الأمراض التي تسببها الجراثيم .

ومن هنا فإنه لا يمكن الاستغناء عن هذا العلم لطلبة التحاليل الطبية على وجه الخصوص ، وطلبة المهن الطبية بصورة عامة .

إنني أضع هذا الكتاب بين يدي طلبة المهن الطبية ، وبخاصة فرع التحاليل المخبرية مراعياً فيه خطة وزارة التعلمي العالي ، وما تتطلبه المادة العلمية من مواضيع تخدم في جملتها الهدف من دراسة علم الأحياء الدقيقة ، وتعنى بتخريج (فني مختبر) يملك ثروة معرفية في مجال تخصصه ، ويتمتع بالمهارات اللازمة لتحقيق الهدف الرئيسي لهذا التخصص - تشخيص الأمراض المتسببة عن الجراثيم - .

هذا وقد اقتضت الخطة المنهجية لهذا الكتاب تقسيمه إلى عشر وحدات كما هي موضحة في فهرس المحتويات ، كما إنني استخدمت المصطلحات الأجنبية وترجمتها بالعربية كي يتمكن القارئ من معرفتها وحفظها والوقوف على دلالتها بالعربية .

اوشتمل الكتاب أيضاً على عدد من الصور التوضيحية لأشكال الجراثيم المختلفة ، ومظاهر بعض الحالات والأصابات المرضية .

كما تضمن الكتاب عدداً من الجداول التي تساعد في تشخيص البكتيريا مخبرياً .

هذا وإني لأرجو أن أكون قد وفقت في عرض المادة العلمية لهذا الكتاب ، وتوخيت فيها الدقة والصواب ، وحققت ما أنشده من غايات وأهداف ، اسهاماً مني في تشييد صرح العلم والمعرفة .

والله من وراء القصد

المؤلف

مقدمة الطبعة الثالثة

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين وعلى آله وصحبه أجمعين وبعد ،،،

فقد نفدت الطبعتان الأولى والثانية لهذا الكتاب وهذه الطبعة الثالثة والحمد لله التي تضمنت إضافات اقتضتها طبيعة التوسع في هذا الموضوع واستكمال جوانبه العلمية المتعلقة بتخصص المختبرات الطبية ، وقد أفاد المؤلف من إطلاعاته للمجلات والدوريات العلمية المتخصصة ومن خبراته العملية والتعليمية في هذا التخصص في تنقيح الكتاب وإجراء التعديلات والإضافات .

ففي الوحدة الثانية تمت إضافة تركيب واستعمال بعض أنواع الأوساط الزراعية المستخدمة في تشخيص الأحياء الدقيقة . وفي الوحدة الخامسة جُدد جدول قياس قطر حلقات النمو بمعيار **Kirby-Bauer** ليشمل عدداً من المضادات الحيوية المستخدمة حديثاً . وزخرت الوحدة السادسة بإضافات حديثة تختص في تشخيص عدد كبير من البكتيريا مستمدة من المجلات العلمية المتخصصة ومن بعض المراجع الحديثة في تشخيص البكتيريا .

وفي الوحدة الثامنة أسماء أنواع جديدة من البكتيريا أو أنواع قديمة أعيد تسميتها وتعديل بعض الاعتبارات الخاصة بانتشار الجراثيم في الطبيعة ومدى تسببها للمرض في الإنسان وكيفية التعامل مع العينات المرضية لغايات تشخيص المسببات .

وفي الوحدة التاسعة أضيفت بعض الفحوصات الجديدة المستخدمة في تشخيص البكتيريا والطرق الآلية واستخدام الحاسوب في تشخيص البكتيريا ودراسة تحسسها للمضادات الحيوية .

وفي ختام هذه المقدمة لا يسعني إلا أن أتقدم بالشكر لكل من أسهم في إخراج هذه الطبعة وأخص بالذكر الاستاذ أحمد عبد الرحمن اسماعيل خليل الذي أشرف على الكتاب تصحيحاً وتدقيقاً من الناحية اللغوية .

آملاً من الله عز وجل أن أكون قد وفقت في عملي هذا

المؤلف

1998

الوحدة الأولى

منع العدوى واستعمال المُجْهِر

أ – طرق انتشار الجراثيم ومنع العدوى بها في المختبر

ب– تحضير الشريحة الرطبة وتحديد حجم وحركة البكتيريا الحية بالمجهر

أ- طرق انتشار الجراثيم ومنع العدوى بها في المختبر :

يتعرض المدرسون والطلاب والفنيون إلى مخاطر الالتهابات أثناء عملهم في مختبرات علم الأحياء الدقيقة ، وهذه المخاطر تأتي من خلال التعامل مع العينات المرضية والزراعية الجرثومية Microbiological Culture . وهناك مخاطر غير جرثومية مثل الجروح الناتجة من الزجاج المكسور وصدمات الأجهزة الكهربائية وحرائق وانفجار الغازات والمحاليل والحروق الناتجة عن الكيميائيات الكاوية ، والتسمم سواء الناتج عن طريق الابتلاع أو التنفس لمواد سامة . وتحدث مثل هذه الحوادث حتى في المختبرات المنظمة بشكل جيد ، لكن نسبة تكرار هذه الحوادث تقل إلى الحد الأدنى عند الأخذ بالاحتياطات الأمنية المعتمدة على فهم المخاطر التي قد تنجم .

ويمكن تكوين مناعة عند العاملين في المختبرات الجرثومية عن طريق إعطائهم المطاعيم أو من خلال التعرض للإصابات الوبائية أو المستوطنة في البيئة التي يعيشون فيها خارج حدود المختبر ، وهذه الحماية لن تكون بالطبع ضد الجراثيم النادرة ، وعلى ذلك يترتب على المتعاملين مع هذه العينات الحرص الشديد . بجانب المحافظة على العاملين في المختبرات أنفسهم . كما يجب عدم نشر أسباب الأصابات من المختبرات إلى خارجها في البيئة المحيطة بوساطة التخلص من المواد المخبرية والعينات ، ولذلك يجب أخذ الحيطة والحذر الشديدين لمنع نشر الأمراض في البيئة .

أجرى الباحثان Pkike & Sulkin عام 1951 م دراسة إحصائية على 5000 خمسة آلاف مختبر في الولايات المتحدة وشملت هذه المختبرات المستشفيات وأقسام الصحة وكليات الطب والطب البيطري ومعاهد البحوث ومصانع المنتجات الحياتية ، وقد حصلا على 1342 حالة التهابية من المختبرات ، 39 منها كانت قاتلة ، وفي عام 1941 م وصف الباحث Sulkin ما مجموعه 2348 حالة التهابية مختبرية ، 170 منها كان قاتلاً .

ومن مجموع الحالات الـ 1342 كانت منها 775 حالة التهاب بكتيري ، وكانت 224 حالة منها حمى مالطية و 153 حالة سل و 65 حالة Tularamia و 85 حالة حمى تيفوئيد و 66 حالة إصابة بالمكورات السبحية Streptococci و 31 حالة إصابة بالزحار العصوي Shigella و 30 حالة إصابة بالجمرة Anthrax و 200 حالة إصابة بالركتسيا (104 حالة حمى Q و 64 حالة تيفوس) ، و 63 حالة إصابة فطرية ، و 39 إصابة طفيلية .

وظهرت غالبية هذه الإصابات في المتدربين والطلاب والفنيين وحالات قليلة جداً ظهرت في الذين يعتنون بالحيوانات ، وفي عمال التنظيفات وغاسلي الأطباق وعمال الصيانة .

تنظيم السلامة Safety Organization

التسهيلات المخبرية Lab. Facilities

تعتبر إجراءات السلامة في المختبر من مهام ومسؤوليات مدير المختبر، ولذلك يجب عليه أن يرتب إجراءات وتنظيمات السلامة ، ويبذل قصارى جهده لتأمين التسهيلات الضرورية ، والحرص على عدم إعطاء الفنيين أعمالاً مرهقة تؤدي إلى فقدان الوقت الكافي لممارسة تقنيات السلامة والتدرب عليها .

ويجب أن تزود كل غرفة في المختبر بمناشف تستعمل لمرة واحدة . وبمغسلة خاصة بالغرفة التي يتم فيها تداول العينات الطبية والنمو البكتيري ، ويجب أن تكون هناك غرفة خاصة للاستعمال وفتح العينات بالأضافة إلى ضرورة توفر غرف جيدة التهوية وبها مراوح لشفط الهواء إلى الخارج والتخلص من مخلفات العمل المخبري بطرق سليمة وبخاصة ما تحمله من جراثيم ضارة للأنسان .

خزانة السلامة Safety cabinet

يجب تزويد المختبر بخزانة تحوي مفرغات لمحتوياتها من الهـواء للخـارج خاصـة عنـد التعامل مع مسببات مرض السل ، ويجب ان تكون مصممة بطريقة مقبولة بحيث يتم تزويـد الهواء داخل الخزانة من منطقة إدخال الأيدي ، وبمعدل 0.16م^3/ الثانية ويتم إخراج الهـواء من خلال مصفي ذي ثقوب بحجم 0.455 µ مـايكرون إلى الخـارج ، وعنـد تغيـير المصفـي يجب تطهيره بغلـي 100 سـم^3 فورمـالين تركـيزه 40٪ باسـتخدام سـخان كهربـائي داخـل الخزانة ، بحيث تكون المروحة المفرغة تعمل على طـرد الهـواء مـن داخـل الخزانـة ، وتكـون فتحات إدخال الأيدي مغلقة .

المطهرات Dis-infectant

يجب أن يزود كل مكان للعمل في المختبر بوعـاء "جـرة Jar" بلاسـتيكي عميـق يحوي محلولاً مطهراً لوضع الماصات والشرائح والبقايا الملوثة ...الخ .

ومن المطهرات الجيدة والمستخدمة في المختبرات Sodium hypochlorite حيث أنه رخيص وفعال ضد البكتيريا والفيروسـات نسـبياً ، ولا يـؤدي إلى إثـارة أو تأثـير سـام . ومن سلبياته أنــه غير مؤثر ضد عصيات السل ، ويؤدي إلى صــدأ المعـادن . ويمكـن تحضـيره بتركيز 10٪ في الماء ، ويجب تحضير المحلول يومياً علـى أن تفحـص فاعليتـه بورقـة اليـود – النشا Starch-Iodine paper حيث يتغير لونها إلى الأزرق إذا كان المحلول فعالاً .

ويمكن استخدام مركبات الفينول لكنها أقل تأثـيراً مـن المحلـول السـابق رغـم أنهـا تؤثر على عصيات السل ، وتأثيرها أقل علـى الفيروسـات ، وهنـاك محلـول 10٪ فورمـالين حيث يستخدم للتطهير ، وهو قاتل للفيروسات والبكتيريا الخضرية ، وكذلك الأبواغ .ومن سلبياته أنه محلول مثير .

ويمكن استخدام محلول إيثانول 70٪ مع 0.5٪ Chlorhexidine .

موظف السلامة ودستورها Safety officer & safety code

يجب تعيين موظف مسؤول عن السلامة ، وممثلين لمختلف الدرجات ليشكلوا هيئة للسلامة . وذلك لصياغة ما يسمى بدستور السلامة ، ويقومون بتوضيحه وكيفية تطبيقه للموظفين . وعلى الموظف المسؤول أن يحتفظ بسجل تفصيلي للحوادث والإصابات المخبرية . كما يجب وضع دستور يتناسب مع ظروف كل مختبر على حده ، لكن قد يحوي قواعد عامة للسلامة في المختبرات الطبية الجرثومية . ويجب أن يحتوي الدستور على تعليمات حول الأمور التالية :

1. الحوادث المؤسفة :

يجب غسل أي جرح حالاً بالصابون والماء ، وإذا كانت العيون الملوثة بالمواد المحتوية على جراثيم يجب أن تنقع العين بماء الحنفية حالاً ، وبدون تأخير وإذا تلوث الفم يجب البصق والغسل بالماء قبل أن يتم ابتلاع أي شيء . أما إذا تلوث الجلد بالدم أو الإفرازات أو النمو الجرثومي ، فيجب بله بمحلول مركز من hypochlorite ثم غسله بالماء والصابون ، وإذا تلوث الجلد بجراثيم قليلة السمية يمكن مسحها بقطنة مغمورة بالمحلول المطهر السابق ، وإذا تلوثت الملابس ، فتنقع المنطقة الملوثة بمحلول مطهر ، ثم تغسل بالماء . ويجب أن يصب محلول مركز من Hypochlorite أو محلول الفينول على بقايا العينات مثل الدم أو النمو أو العينات الماصة وتركها لمدة لا تقل عن 10 دقائق قبل أن تفرك بقطعة قماش أو محارم ورق حيث تنقل الأخيرة إلى جهاز البخار تحت الضغط (Autoclave). ثم يجب التبليغ عن مثل هذه الحوادث لمسؤول السلامة لتسجيلها وأخذ إجراءات الوقاية بإعطاء المضادات الحيوية أو المطاعيم أو الأمصال .

2. الصحة الشخصية :

لا تدخن ولا تأكل ولا تشرب في المختبر أو الممرات المؤدية إليه . لا تلمس أو تلعق المواد اللاصقة ولا تضع إصبعك في فمك ، ولا تضع كذلك أقلاماً أو أي شيء آخر

في فمك ولا تفرك عينيك بإصبعك واغسل يديك بعد كل عمل تقوم به من المحتمل أن يكون قد لوثك بمواد تحمل جراثيم ولا تنس غسل يديك دائماً وقبل مغادرتك للمختبر . ولابد من ان تكون مرتدياً معطفك الأبيض النظيف الخاص بالمختبر أثناء عملك في داخل المختبر . ويفضل عند فتحك للعينات المرضية أو النمو الجرثومي أن تكون مرتدياً قفازات بلاستيكية واقية ، وإذا كان من المتوقع نقل المواد الطبية الملوثة إلى العيون ، فيفضل استخدام نظارات واقية. وقبل مغادرة المختبر لأي سبب اخلع المعطف والقفازات والنظارات .

3. جمع العينات :

يجب جمع عينات الدم والإفرازات ... الخ . في حاويات المختبر مثل الأنابيب ذات الأغطية المحكمة ، حيث أنها لا تسيل ما بداخلها ، وعند تفريغ العينة في حاويتها يجب أن لا تعبئها حتى نهايتها لكي تتجنب تلوث أسطحها من الخارج ، ثم أحكم إغلاقها واكتب اسم المريض على الورقة الملصقة على سطح الحاوية من الخارج وأرسلها للمختبر في وضع صحيح من دون قلب الحاوية وأرسل نماذج طلبات الفحوصات بشكل منفصل عن العينات ولا تلصق نموذج طلب الفحص مع الحاوية أو تلف الحاوية بالنموذج . تأكد من عدم سيلان الحاوية للعينة وعدم تلويثها للأسطح الخارجية وإذا حصل شيء من هذا ، دع مسؤول السلامة يشاهد مثل تلك الحاويات ، والذي بدوره قد يقرر إتلافها والتخلص منها قبل الفحص ، وإذا كانت الحاوية مفتوحة يجب التخلص منها بلطف من دون إحداث نشر للعينة في المنطقة المحيطة .

4. الحرص على مكان العمل :

تأكد من وجود المحلول المطهر في الحاوية (الجرة Jar) ، حاول أن تضيق منطقة العمل ، لأن الحوادث والأخطاء تحدث من تأزم المكان وكثرة الأجهزة والأشياء فيه ثم أوقف الأنابيب والحاويات على حوامل مناسبة وإذا سقطت مواد ملوثة على الطاولة أضف

إليها محلول hypochlorite أو الفينول وانتظر لمدة 10 دقائق قبل المسح ، لا تنس أن تمسح الطاولات عند نهاية يوم العمل في المختبر بمحلول مطهر .

5. التخلص من حاويات المحاليل المطهرة :

في صباح كل يوم يجب التخلص من المحلول الذي استعمل في اليوم السابق ، ثم طهر الحاوية بالتسخين تحت درجة 65 م لمدة عشر دقائق ، وأعد تعبئتها بمحلول مطهر جديد . ضع الماصات والأدوات الزجاجية التي تتلوث بالمواد المحتوية على جراثيم بلطف حتى لا تحدث رذاذاً في المحيط خوفاً من انتشار التلوث . تفحص فاعلية المحلول المطهر باستخدام ورقة اليود – النشا .

6. التخلص من الصندوق :

ضع جميع الأدوات الزجاجية والبلاستيكية وأطباق بتري المحتوية على النمو وبقايا العينات المحتوية على الجراثيم والقفازات في صندوق معدني تمهيداً لوضع الصندوق في جهاز التعقيم بالبخار المضغوط Autoclave . ويمكن وضع الأشياء السابقة في صندوق بلاستيكي غير منفذ للسوائل وحرقه في المحرقة . ويجب عدم السماح لأي شخص بحمل هذا الصندوق لأرساله إلى المحرقة إلاّ من قبل الأفراد العاملين في المختبر .

7. يجب أخذ الحيطة والحذر :

في عدم إحداث انتشار للنمو الجرثومي والمواد المحتوية على جراثيم على الأيدي أو الوجه أو الملابس أو الطاولة ووضع ما تبقى منها في الصندوق المعدني تمهيداً لتعقيمها .

مارس جميع خطوات العمل بهدوء ورتابة ودون إحداث تطاير في المواد ، استعمل Wire loop قصير ذو حلقة ضيقة خوفاً من إحداث اهتزاز في السلك الطويل مما يؤدي إلى حدوث تطاير لما تحمله حلقة السلك . احرق السلك وحلقته بشكل طولي حتى يحمر قبل وعقب استعماله وقبل أن يوضع على الطاولة .

8. استخدام الماصات :

إياك أن تستعمل ماصات فموية (باستخدام الفم)، وإنما استخدم ماصات أوتوماتيكية أو الماصات التي تسحب السوائل بواسطة الكرة المطاطية ولا تسحب السائل حتى نهاية طرف الماصة ، وعند نقل محتويات الماصة تأكد من أن فتحة الماصة قد وضعت داخل الحاوية الجديدة ، ثم ابدأ بتفريغ محتواها بهدوء ، واجعل السائل يسيل على جدار الحاوية ولا تنفخ بقايا السائل الموجود في الماصة . لا تضع الماصة الملوثة على الطاولة بل اغمرها داخل المحلول المطهر .

9. استخدام الحقن :

يفضل استخدام الحقن البلاستيكية التي تستعمل لمرة واحدة ، وقبل الاستعمال تأكد أن الإبرة مثبتة بالحقنة بشكل جيد ، وعند طرد الهواء منها اطمر رأس الإبرة في قطنة معقمة ، وعند تفريغ محتواها في حاوية أو تفريغ بقايا المواد المفرغة في حاوية المحلول المطهر ، مارس عملية التفريغ بهدوء لتجنب تكون الرذاذ . وبعد الانتهاء من التفريغ ضع الحقنة مع إبرتها في حاوية صلبة (معدنية) تمهيداً لتعقيمها في جهاز الأوتوكليف أو بالحرق ، وبالتالي نكون قد تجنبنا احتمالية استخدام الحقنة الملوثة من قبل أي شخص آخر .

10. خزانة السلامة :

قم بإجراء جميع الخطوات العملية مع العينات المرضية أو الزراعات التي تحتوي على عصيات السل ، أو الحمى المالطية أو مسببات حمى (Q) أو الركتسيا أو الكلاميديا ، أو أي مسبب للأمراض التي تنتقل عن طريق الهواء، كل ذلك يجب إجراؤه داخل خزانة

السلامة ، وشغّل مروحة التهوية ، وبعد الانتهاء من العمل أشعل مصباح الأشعة فوق البنفسجية داخل خزانة السلامة ولمدة ساعتين .

11. جهاز الطرد المركزي :

عند استخدام جهاز الطرد المركزي يجب التأكد من توازن الأنابيب أو الحاويات المستخدمة بدقة خوفاً من كسرها وتلويث الجهاز وحاملات الأنابيب فيه .

يمكن استخدام أنابيب بلاستيكية أو زجاجية مقواة غير قابلة للكسر ، ويفضل استخدام أنابيب ذات أغطية محكمة . لا تعبئ الأنبوب أكثر من ثلاثة أرباعه ، ثم أغلقه جيداً . وقبل وضع الأنبوب في المكان المخصص لذلك في الجهاز تأكد من خلو جيب الجهاز (المكان الذي يوضع فيه الأنبوب) من بقايا قطع زجاجية . عند الانتهاء من عملية الفصل والترسيب أوقف الجهاز وانتظر حتى يتوقف لوحده بهدوء ، ومن دون تدخل منك بوقف محور الدوران . إذا حدث كسر في الأنبوب عليك إيقاف الجهاز والانتظار لمدة عشر دقائق بعد الوقوف التام للجهاز حتى يستقر الرذاذ ويرسب في القاع . حرك الجيب بما يحوي من أنبوب مكسور ومحتوياته وضعة في حاوية للتعقيم بجهاز الأتوكليف أو يمكن وضعها في محاليل مطهرة من الفينول والفورمالين وغيرها ولليوم التالي ، ثم تزال بوساطة ماسحة قطنية Cotton swab ثم تغسل بالمطهر وبوساطة ماسحة جديدة ، ثم تغسل بالماء .

12. التحصين :

يجب تحصين الذين يعملون في المختبرات والذين يتعاملون مع مواد مصابة ، وهذا التحصين يكون ضد الدفتيريا والكزاز وشلل الأطفال والسل والتيفوئيد والجدري ، وفي حالة النساء الحوامل تحصن تلك النسوة ضد الحصبة الألمانية ، ويجب إعادة التطعيم ضد الجدري كل ثلاث أو أربع سنوات يجب تحصين العاملين ضد مرض التيفوس وحمى (Q) التي تسببها الركتسيا عند التعامل مع مسببات هذه الأمراض . في حالة التأكد من

عدم وجود مناعة ضد حمى (Q) يجب إعادة التطعيم . كما يجب منع الفنيين الذين لا يظهرون نتائج إيجابية مع فحص Tuberculin من العمل حتى يظهروا نتائج إيجابية ويتم ذلك بالتطعيم .

ب- الكشف عن البكتيريا غير المصبوغة (التحضير الرطب)

يمكن مشاهدة البكتيريا تحت المجهر في تحضير غير مصبوغ ، ويمكن تميز البكتيريا المتحركة بشكل أوضح من البكتيريا غير المتحركة حيث تظهر البكتيريا غير المتحركة على شكل نقاط قاتمة اللون ، ولا يمكن تحديد ترتيبها وشكلها بدقة ، وذلك لاستخدام العدسات ذات التكبير المنخفض في مشاهدة الشرائح غير الملونة أي العدسات 10 و 40 ، ولأن هدف إجراء هذه التجربة هو الكشف عن الحركة البكتيرية وليس الشكل والترتيب .

وبناء على ذلك يمكن مشاهدة الخلايا البكتيرية غير الملونة بطريقة التحضير المباشر أو التحضير الرطب . وتتلخص العملية بوضع قطرة من المحلول الملحي على الشريحة الزجاجية النظيفة ثم إضافة كمية بسيطة جداً من النمو البكتيري ويخلطان لتكوين معلق وتوضع فوقه غطاء الشريحة النظيفة ، ثم تقرأ الشريحة تحت المجهر .

ويمكن عمل معلق بكتيري في أنبوب اختبار ، وذلك بإضافة كمية من النمو البكتيري إلى أنبوب اختبار يحتوي على المحلول الملحي ، ويخلطان جيداً ، ثم تنتقل قطرة من المعلق البكتيري إلى شريحة زجاجية تغطى بغطاء الشريحة ، وتفحص تحت العدسات الجافة ، ويمكن أن نسمي هذا التحضير تجربة الحركة لأننا نكشف عن البكتيريا المتحركة من غير المتحركة . ويفضل عند إجراء تجربة الحركة عمل تقنية القطرة المعلقة **Hanging drop** ، وفي هذه تستعمل شريحة ذات فجوة **Cavity slide** وتوضع قطرة المعلق على غطاء الشريحة وتقلب فوق الفجوة بحيث تبقى قطرة المعلق معلقة في فراغ التجويف .

بالنسبة لحركة البكتيريا تنقسم إلى قسمين اثنين هما :

أ- حركة حقيقية .

ب- حركة اهتزازية براونية موضعية .

والأولى تؤدي إلى تغيير وضع الخلية بينما الثانية تبقى الخلية من دون تغيير في موقعها ، وتقوم باهتزازات موضعية .

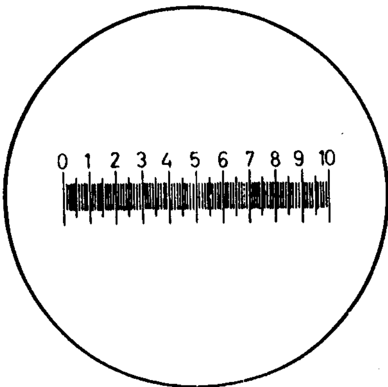
سبب الحركة الحقيقية وجود الأسواط Flagella وتسمى البكتيريا المتحركة Motile والتي لا تحتوي على أسواط غير متحركة Nonmotile .

وسبب الحركة الاهتزازية حركة السائل في سيتوبلازم الخلية .

تحديد حجم الخلية بالتحضير الرطب :

مع أن حجم البكتيريا صغير ، لكن يمكن قياس حجمها بسهولة ودقة . ولتحقيق هذا الهدف يكون المجهر مجهزاً بمقياس عيني دقيق Ocular micrometer وهو عبارة عن قرص محفور بخطوط متساوية الأبعاد . ويتم قياس حجم البكتيريا أو أي جسم آخر تحت المجهر المجهز بهذا المقياس وذلك بتحديد قياس الجسم بعدد أجزاء المقياس العيني وعلى أية عدسة شيئية تم القياس . وبعدها يُضرب عدد الأجزاء في قيمة كل جزء وحسب العدسة الشيئية المستخدمة وحسب الجدول الموضح في الصفحة التالية .

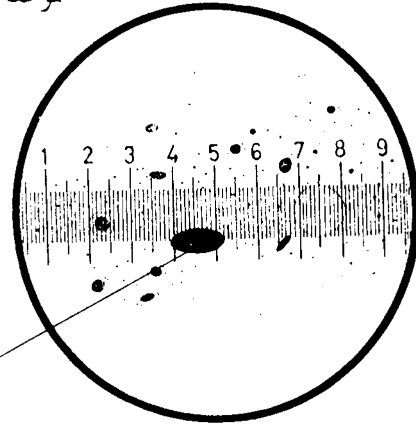
والمثال الوارد في الصفحة التالية يوضح ذلك .



مقياس عيني مثبت على العدسة العينية

OBJECTIVE	VALUE OF ONE EYEPIECE DIVISION
×5	33.3 µM
×10	14.3 µM
×42	3.1 µM
×95	1.4 µM

جدول يوضح قيمة كل درجة على العدسة العينية باستخدام العدسة الشيئية الموضحة إزاء كل قيمة



شكل يوضح طول النـواة تحت العدسة 42 ويساوي 13 جزء من أجزاء العدسة العينية وبذلك يكون طول النواة =

13 x 3.1 = 40 micron

الوحدة الثانية

زراعة البكتيريا

أ – مكونات وتحضير المنابت الصلبة والسائلة .

ب– زراعة وعزل المستعمرات البكتيرية النقية .

جـ– تحديد حجم وشكل ولون المستعمرات البكتيرية .

أ- مكونات المزارع البكتيرية وتحضيرها

Contents and preparation of bacterial culture media

تمثل الأوساط الزراعية للبكتيريا العنصر الغذائي من متطلبات النمو والـ PH ولذلك فان هناك أنواعاً كثيرة من حيث المحتوى الغذائي بحيث يواجه متطلبات نمو أنواع شتى من البكتيريا، وتصنف الأوساط الزراعية حسب قوامها إلى صنفين هما:

1. الأوساط الصلبة (شبه الصلبة) Solid (semi solid) media

وهذه تشبه في شكلها وقوامها الجلي. وسبب صلابتها هو إضافة مادة الأجار Agar إليها التي تقوم بتصليب الوسط ولا تتدخل في التغذية أبداً ولذلك تسمى أحياناً هذه الأوساط بـ Agar media .

2. الأوساط السائلة Broth (liquid) media

وهذه الأوساط قد تحتوي على نفس المواد الغذائية في الوسط الصلب لكن من دون مادة تصليب Agar . نصب النوع الأول في أطباق خاصة تسمى أطباق بتري Petri dishes ، بينما نصب الثاني في أنابيب زجاجية أو قناني لسهولة التداول. أما من ناحية المحتوى الكيميائي فان الأوساط تنقسم إلى الأقسام التالية :

أ. الأوساط البسيطة العادية Simple ordinary media

وهذه تواجه متطلبات نمو البكتيريا ذاتية التغذية ، وأحياناً غير ذاتية التغذية ، وتحتوي على مركبات غذائية بسيطة ومثال ذلك Nutrient agar or broth .

ب. الأوساط الغنية Enriched media

وهي الأوساط العادية البسيطة مضافاً إليها مواد غذائية غنية إضافية مثل الدم والمصل أو مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات نمو الجراثيم صعبة الأرضاء Fastidious m. organisms ، مثال ذلك :

Milk agar, Serum agar, Blood agar

3. الأوساط الاختيارية Selective media

إضافة مواد كيميائية معينة بتركيز معين يؤدي إلى السماح لنمو مجموعة من البكتيريا ، ومنع نمو مجموعة أخرى مثل إضافة صبغة جرام ، وهي Crystal violet بتركيز محدد يؤدي إلى منع نمو الـ g + ve ويسمح لنمو مختلف الـــ g - ve بكتيريا .

مثال ذلك :

Eosin - Methylene Blue (E.M.B), MacConkey's agar

4. الأوساط المفرقة Differential media

الوسط الذي يسمح لنمو نوعين من البكتيريا بحيث يستطيع المشاهد أن يميز بينهما لظهورهما بصفات مختلفة، مثل إضافة الدم إلى الوسط الزراعي تؤدي إلى التمييز بين البكتيريا المحللة للدم من البكتيريا غير المحللة له، حيث تظهر حلقة فارغة من الدم حول المستعمرة إذا كانت الخلية البكتيرية من النوع المحلل للدم Haemolytic bacteria بينما لا تظهر حلقة شفافة حول المستعمرة في حالة ما تكون البكتيريا غير محللة للدم Non haemolytic bacteria وبذلك تلعب الأوساط المحتوية على الدم دور الوسط الغني والمفرق في نفس الوقت .

هذه هي الأنواع الرئيسة الأهم ، رغم ذلك يوجد أنواع خاصة لخدمة باحث في بحث معين ، ونوع لعد الخلايا البكتيرية (وأخرى) لتشخيص صفات بكتيريا معينة .

تحضير الأوساط الزراعية Preparation of culture media

يمكن تحضير المزارع الجرثومية بإتباع الخطوات التالية :

1. زن مسحوق الوسط الجاهز الجاف وحسب التعليمات المثبتة على علبة الوسط .
2. أذبها في حجم الماء المقطر المحدد في التعليمات، وغالباً ما يكون لتر وتتم الإذابة أما بالتحريك أو قد تحتاج إلى تسخين .

3. اضبط درجة الـ PH باستخدام ورقة الـ PH أو جهاز قياس الـ PH .
4. وزع المحلول (الوسط) في أنابيب اختبار وغطها (إذا كان الوسط سائلاً) .
5. ضع الأنابيب أو القارورة (إذا كان الوسط صلباً) في جهاز التعقيم بالبخار Autoclave لمدة 15 دقيقة تحت ضغط 15 باوند / انش^2 ، ودرجة الحرارة 121°م لأجل التعقيم .
6. أخرجها من الجهاز وانتظر حتى تبرد قليلاً (بالنسبة للوسط الصلب) ثم صبها في أطباق معقمة من أطباق بترى في جو خال من تيار هوائي على طاولة نظيفة مطهرة ومحاطة بلهب بنسون مشتعل ، تبقى الأطباق مفتوحة حتى لا يتكثف البخار على غطاء الطبق، ثم بعد التصلب تحفظ في الثلاجة . إذا كان الوسط سائلاً، فلا داعي للصب، وتخرج الأنابيب من جهاز التعقيم ، وينتظر حتى تبرد ثم تحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام .

تحضير ومكونات الأوساط Preparation & formulate of media

Nutrient Agar

Beef extract	3 gm.
Peptone	5 gm.
D. water	1000 ml.
Agar	15 gm.

أذب جيداً بالتسخين على اللهب حتى الغليان، ثم عقم في الأوتوكليف على درجة 121°م لمدة 15 دقيقة تحت ضغط 15 باوند، برد قليلاً ثم صب في الأطباق واحفظ في الثلاجة .

Blood Agar Base

Beef Heart, Infusion form	500 gm.
Tryptose	10 gm.
Nacl	5 gm.
Agar	15 gm.

علق 40 جراماً من الخليط في لتر واحد من الماء المقطر ثم عقم ثم برد حتى 48 درجة مئوية، ثم أضف الدم المعقم . حرك الإناء لتخلط جيداً، ثم صب في الأطباق وبرد واحفظ في الثلاجة ، يفضل أن لا تزيد مدة حفظها في الثلاجة عن أسبوع . من الأفضل أن تكون نسبة الدم 10٪ بالنسبة لحجم الوسط .

لتجنب بقاء فقاعات هواء على سطح الأطباق يمكن تمرير اللهب فوق سطح الوسط على الطبق للتخلص من هذه الفقاعات .

Bordet - Gengous medium

Potatoes, infusion form	125 gm.
Nacl	5.5 gm.
Agar	20 gm.
D. H20	1000 ml.

عقّم تحت ضغط 15 باونداً لمدة 15 دقيقة، برد حتى 50 درجة مئوية، ثم أضف 15 – 20٪ دماً معقماً . تستعمل هذه الأوساط لتنمية *B. Pertussis* .

Brain - heart infusion broth

Calf brains, infusion	200 gm.
Beef heart, infusion	250 gm.
Proteose peptone	10 gm.
Dextrose	2 gm.
NaCl	5 gm.
Na2 PO4	2.5 gm.
D.H2O	1000 ml.

(Final PH= 7.4)

يســـتخدم هـــذا الوســـط لزراعـــة الـــ Pneumococcus لإجـــراء تجربـــة . Bile solubility test

Brilliant Green Agar

Yeast extract	3 gm.
Proteose peptone No. 3	10 gm.
NaCl	5 gm.
Lactose	10 gm.
Sacchrose	10 gm.
Phenol red	0.08 gm.
Brilliant green	0.125 gm.
Agar	20 gm.
D. H_2O	1000 ml.

(Final PH 6.9)

تستعمل هذه الأوساط لعزل الـ Salmonella باستثناء *S. typhi* ولا يمكن عـزل الـ Shigella منها لأنها لا تنمو عليها .

Chocolate agar

هي عبارة عن Blood agar سخنت حتـى تحـول لونهـا إلى بـني أو شـيكولاتي ، ويمكن تحضيرها بنفـس طريقـة وكميـات المـواد المسـتعملة في تحضـير الــ Blood agar . وبعد إضافة الدم إلى Blood agar base المعقم في جهاز الأوتوكليف يحرك ويسخن علـى اللهب حتى الغليان، ولمدة دقيقة واحدة حيث تتفتت الخلايا الحمراء ويحـرر الهيموجلوبـين، ومع التسخين يتغير اللون إلى البني، ثم يصب في الأطباق ويبرد ويحفظ في الثلاجة، ويوضـع طبق أو اثنان في الحاضنة للتأكد من عدم تلوث الأوساط المحضرة .

Thayer - martin agar

تستعمل هـذه الأوسـاط لعزل *N. meningitidis & N. gonorrhoeae* ، ويمكن تحضيرها من خلال تحضير الـ Chocolate agar ، ولكن يضـاف إليهـا مضـادات حيويـة حيـث تسـاعد في قتـل الجراثيـم الملوثـة للعينـة الطبيـة المشـتبه في احتوائهـا على الـ Neisseriae .

Citrate agar

D. water	1000 ml.
Agar	20 gm.
NaCl	5 gm.
Magnesium sulfate	0.2 gm.
NH4 - hydrogen phosphate	1 gm.
Dipotasssium phosphate	1 gm.
Sodium citrate	2 gm.
Bromthymol blue	0.08 gm.

(Final PH 6.9)

تسـتعمل هـذه الأوسـاط للتحقـق مـن اسـتخدام الـ citrate مـن قبـل البكتيريـا كمصدر وحيد للكربون ، ويظهر ذلك بوجود نمو أو عدمه بعد فـترة الحضانـة علـى درجـة الحرارة المناسبة .

Desoxycholate agar

Peptone	10 gm.
Lactose	10 gm.

Na. citrate	1 gm.
Ferric citrate	1 gm.
NaCl	5 gm.
Dipotassium phosphate	2 gm.
Na - desoxycholate	1 gm.
Agar	16 gm.
Neutral red	0.033 gm.
D. water	1000 ml.

تستعمل هذه الأوساط لعزل الـ Gram - ve enteric bacilli وللتمييز بين البكتيريا المخمرة لِلاّكتوز من غير المخمرة له .

Desoxycholate citrate agar

Meat , infusion form	350 gm.
Peptone	10 gm.
Lactose	10 gm.
Na - Citrate	20 gm.
Ferric Citrate	1 gm.
Na - desoxycholate	5 gm.
Agar	17 gm.
Neutral red	0.02 gm.
D. water	1000 ml.

(Final PH 7.3)

تستعمل هذه الأوساط لعزل الـ Salmonella & Shigella من البراز أو عينات أخرى .

Eosin - Methylene Blue agar (E.M.B.)

Peptone	10 gm.
Lactose	5 gm.
Sucrose	5 gm.
Dipostassium phosphate	2 gm.
Agar	13.5 gm.
Eosin Y	0.4 gm.
Methylene blue	0.65 gm.
D. water	1000 ml.

يمكن إضافة كمية الـ Agar لزيادة تركيزه إلى 5٪ أي بإضافة 3.65 جرام حتى يمنع انتشار الـ Proteus .

يمكن التمييز بين البكتيريا الـ *E. coli* التي تخمر اللاكتوز من التي لا تخمره، وذلك من خلال مظهر المستعمرات، فتظهر مثلاً مستعمرات *E. coli* خضراء لامعة Metalic sheen ، وإذا استعمل السكروز وكان تركيز الـ Agar عالياً فان الـ Proteus تظهر بنفس الميزات .

Loffler Coagulated Serum Medium

أضف ثلاث وحدات من مصل الحصان مثلاً إلى وحدة واحدة من الـ Glucose infusion broth (1٪) جلوكوز. ضع الخليط في الأنبوب وسخنه لمدة ساعتين على

درجة حرارة 75 – 85°م لثلاثة أيام متتالية . ويمكن تعقيم الوسط بالأوتوكليف تحت ضغط 15 باونداً لمدة 15 دقيقة حتى يتجلط الوسط .

Egg - glycerol medium = Lowenstein - Jensen Medium

Monopotassium phosphate Salt	**2.4 gm.**
Magnesium sulfate 7H 2O	**0.24 gm.**
Magnesium citrate	**0.6 gm.**
Asparagin	**3.6 gm.**
Glycerol, reagent grade 1	**12 ml.**
D. water	**600 ml.**
Potato flour	**30 gm.**
Homogenized whole egg	**1000 ml.**
Malachite green 2% aqueous	**20 ml.**

أضف مسحوق البطاطا Potato flour إلى قارورة المحلول الملحي، وضع الخليط في الأوتوكليف على درجة 121°م لمدة 30 دقيقة، اغسل بيضاً طازجاً لا يتجاوز عمره عن أسبوع بواسطة 5٪ محلول الصابون، وأبق البيض فيه لمدة 30 دقيقة، ثم ضعه في الماء الجاري والبارد حتى يصبح صافياً ، اغمر البيض الصافي المنظف في 70٪ كحول لمدة 15دقيقة، ثم انزعه وكسره في قارورة معقمة ، اخلط جيداً لجعله متجانساً ، ثم صفِّ باستعمال شاش معقم بأربع طبقات .

أضف لتراً من خليط البيض المتجانس إلى القارورة المحتوية على مسحوق البطاطا والمحلول الملحي ، ثم أضف الـ Malachite green إلى هذا الخليط وامزج جيداً. وزع الوسط في أنابيب اختبار ، وفي كل أنبوب 6 مللتر تحت ظروف معقمة. كشف الأنابيب

على درجة 85 مئوية لمدة 50 دقيقة، وتفحص مدى تعقيمها بوضع أنبوب في الثلاجة ولمدة شهر إذا كانت الأنابيب محكمة الإغلاق لمنع فقدان الرطوبة .

تستعمل هذه الأوساط لتنمية الـ *Mycobacterium tuberculosis*

MacConkey agar

Peptone	**17 gm.**
Proteose peptone	**3 gm.**
Lactose	**10 gm.**
Bile salts	**1.5 gm.**
Sodium chloride	**5 gm.**
Agar	**13.5 gm.**
Neutral red	**0.03 gm.**
Crystal Violet	**0.001 gm.**
Distilled water	**1000 ml.**

يمكن زيادة تركيز الـ Agar إلى نسبة 5٪ وذلك بإضافة 3.65 جرام من Agar لمنع انتشار الـ Proteus . تعتبر هذه الأوساط مفرقة differential & مثبطة Inhibitory أكثر من اعتبارها اختيارية Selective . تظهر الـ Coli form (وهي المخمرة للاكتوز) مستعمرات وردية اللون، بينما غير المخمرة للاكتوز تظهر مستعمرات من دون لون (شفافة) .

Methyl red - voges - proskauer medium (MR - VP)

Buffered peptone	**7 gm.**
Dextrose	**5 gm.**
Dipotassium phosphate	**5 gm.**
Distilled water	**1000 ml.**

(Final PH6.9)

تستعمل هذه الأوساط لأجراء تجربة الـ V.P. & methyl red .

Nitrate broth for nitrate reduction test

Tryptone	5 ml.
Neopeptone	5 gm.
Distilled water	1000 ml.
Potassium nitrate (reagent grade)	1 gm.
Glucose	0.1 gm.

قبل إضافة نيترات البوتاسيوم والجلوكوز، اغل المحتويات الأخرى بالماء ونظم الـ PH ليكون 7.3 – 7.4 وزع 5 مللتر في كل أنبوب وعقم تحت ضغط 15 باونداً لمدة 15 دقيقة .

phenylalanin Agar

Yeast extract	3 gm.
DL - phenylalanine	2 gm.
(or L - phenylalanine)	1 gm.
Disodium phosphate	1 gm.
Sodium chloride	5 gm.
Agar	12 gm.
Distilled water	1000 ml.

وزع 3 مللتر في كل أنبوب وعقم على درجة 121°م لمدة 10 دقائق . دع الأوساط تتصلب في وضع مائل. تستعمل هذه الأوساط للتحقق من قدرة البكتيريا على إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني Phanylalanine وتكوين Phenylpyruvate .

Sabouraud dextrose agar (S.D.A)

Neopeptone	10 gm.
Dextrose	40 gm.
Agar	15 gm.
D. H_2O	1000 ml.

علق 65 جراماً من مسحوق لوسط في لتر ماء مقطر واغلها لإتمام الإذابـة ووزعهـا في أنابيب. وإذا كان لا بد من إضافـة المضـادات الحيويـة، فيكـون بعـد التسـخين والتعقيـم بالأتوكليف. بعد إضافة المضادات الحيوية يمكن وضع الوسـط في الأوتوكليـف علـى درجـة 118 مئوية لمدة لا تزيد عن 10 دقـائق. بـرد في وضـع مـائل ثـم احفـظ في الثلاجـة . هـذه الأوساط الاختيارية تستعمل لعزل الفطريات .

Salmonella - Shigella (S.S) agar

Beef extract	5 gm.
Peptone	5 gm.
Lactose	10 gm.
Bile salts mixture	8.5 gm.
Sodium citrate	8.5 gm.
Sodium thiosulfate	8.5 gm.
Ferric citrate	1 gm.
Agar	13.5 gm.
Brilliant green	0.33 gm.
Neutral red	0.025 gm.
D. H20	1000 ml.

أذب باستعمال الغلي ، لا تستعمل الأوتوكليف. تستعمل هذه الأوساط لعزل العصيات المعوية الضارة ، وتمنع نمو الـ Coli form وتميز بين البكتيريا التي تخمر اللاكتوز والتي لا تخمره .

Tetrathionate broth

Proteose peptone	5 gm.
Bile salts	1 gm.
Calcium carbonate	10 gm.
Sodium thiosulfate	30 gm.
Distilled water	1000 ml.

وزع 10 ملليتر في كل أنبوب وسخن حتى الغليان. وقبل الاستعمال أضف 0.2 ملليتر من محلول اليود (6 جرام من بلورات اليود + 5 جرام يوديد البوتاسيوم + 20 ملليتر ماء) إلى كل أنبوب .

تستعمل هذه الأوساط السائلة الاختيارية الغنية في عزل الـ Salmonella باستثناء الـ *S. typhi* . يمكن الاحتفاظ بالمحلول الأول (من دون يود) إلى وقت غير محدد في الثلاجة .

Thioglycollate medium without indicator

Peptone	20 gm.
L - cystine	0.25 gm.
Glucose	6 gm.
NaCl	2.5 gm.

Na - sulfate	0.5 gm.
Na - sulfite	.1 gm.
Agar	0.7 gm.
D. water	1000 ml.

(Final PH 7.2)

وزع كل 15 ملليتراً من الوسط في أنبوب اختبار ، عقم في الأوتوكليف لمدة 15 دقيقة على درجة 121 مئوية . احفظ على درجة حرارة الغرفة .

Triple Sugar Iron (T.S.I.) Agar

Peptone	20 gm.
Sodium chloride	5 gm.
Lactose	10 gm.
Sucrose	10 gm.
Glucose	1 gm.
Ferrous ammonium sulfate	0.2 gm.
Na - thiosulfate	0.2 gm.
Phenol red	0.025 gm.
Agar	13 gm.
D. water	1000 ml.

(Final PH 7.3)

تستخدم هذه الأوساط لمعرفة تخمير السكريات وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين كخطوة أولى للتحقق من وجود الـ g - ve bacilli .

Urea agar = Urease test medium

Peptone	1 gm.
Glucose	1 gm.
NaCl	5 gm.
Mono - K - phosphate	2 gm.
Phenol red	0.012 gm.
Agar	20 gm.
D. water	1000 ml.

(Final PH 6.8 - 6.9)

حضر الـ Agar base ، وعقم في الأوتوكليف على درجة 121 مئوية لمدة 15 دقيقة في قارورة تحتوي على 100 – 200 مللتر ، ثم احفظ لحين الحاجة .

حضر 29٪ محلول اليوريا، عقم باستخدام المصفي البكتيري المعقم، أضف 10٪ محلول اليوريا المعقم إلى الـ Agar base الذي ذاب، وبرد إلى درجة 50 مئوية . اخلط جيداً ووزع في أنابيب صغيرة تحت ظروف معقمة بحيث يكون 2 – 3 مللتر في كل أنبوب. اسمح للأوساط بأن تبرد في وضع مائل .

تستعمل هذه الأوساط لمعرفة البكتيريا إن كانت منتجة لأنزيم Urease مثل الـ Proteus . ويمكن استعمالها لمشاهدة إنتاج كميات قليلة من هذا الأنزيم بوساطة الـ Coli form بكتيريا وتمييزها عن الـ Salmonella والـ Shigella التي تعطي نتائج سلبية مع هذا الفحص ، ويمكن استخدامها لمشاهدة إنتاج هذا الأنزيم بوساطة Cryptococcus spp .

T.C.B.S. (Thiosulphate Citrate Bile Salt)

Peptone from casein	5 gm.
Peptone from meat	5 gm.
Yeast extract	5 gm.
Sodium citrate	10 gm.
Sodium thiosulfate	10 gm.
Oxgall	5 gm.
Sodium choclate	3 gm.
Sucrose	20 gm.
Sodium chloride	10 gm.
Iron III citrate	1 gm.
Thymol blue	.04 gm.
Bromothymol blue	.04 gm.
Agar - agar	14 gm.

(PH 8.8)

يستعمل هذا الوسط لعزل وتنمية ضميات الكوليرا ، حيث يعتبر وسطاً اختيارياً لهذه البكتيريا بشكل عام .

Sensitivity Test Agar (Muller - Hinton)

Pancreatic digest of casien	2 gm.
Peptic of animal tissue	7 gm.
veal infusion	9 gm.

Dextrose	10 gm.
Sodium chloride	3 gm.
Disodium phosphate	2 gm.
Sodium acetate	1 gm.
Adenine sulfate	.01 gm.
Guanine	.01 gm.
Uracil	.01 gm.
Xanthine	.01 gm.
Agar	14 gm.

(Final PH7.3)

يستعمل هذا الوسط لإجراء فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .

CLED Medium (Mackey & Sandys)

The Cystine - Lactose - Electrolytes - Deficient medium

Peptone	4 gm.
Beef extract	3 gm.
Typtone	4 gm.
Lactose	10 gm.
L - cystine	.128 gm.
Brom - thymol blue	0.2 gm.
D.H2O	1000 ml.

(Final PH 7.3)

تعطي الزراعة هذا الوسط النتائج التالية :

E. coli : مستعمرات صفراء معتمة (تظهر السلالات غير المخمرة للاكتوز زرقاء اللون)

Klebsiella : مستعمرات مخاطية بلون أصفر – أبيض مزرق

Proteus : مستعمرات زرقاء أصغر من بعض سلالات الـ *E. coli*

Salmonella : مستعمرات زرقاء منبسطة

Ps. pyocyanea : مستعمرات خضراء

S. fecalis : مستعمرات صفراء (0.5 ملم قطر المستعمرة)

S. aureus : مستعمرات صفراء داكنة (0.75 ملم قطر المستعمرة)

Coagulase - ve staph : مستعمرات صفراء قاتمة أو بيضاء معتمة أكثر من *S. fecalis* وحافة شاحبة .

Diphtheroid : مستعمرات صغيرة جداً رمادية .

Lactobacilli : مستعمرات صغيرة جداً رمادية بسطح خشن .

Tween 80 hydrolysis Substrate

M/ 15 phosphate bnffer , PH 7	**100 ml.**
Tween 80	**.5 ml.**
Neutral red (0.1% aqueous solution)	**2 ml.**

امزج المحاليل أعلاه ووزع في أنابيب ذات أغطية محكمة الإغلاق بواقع 2 مللتر لكلك منها . عقم بالأوتوكليف لمدة 10 دقائق وتفحص التعقيم بالحضن تحت 36°م لمدة 24 ساعة حيث يكون اللون النهائي أصفر برتقالياً إلى قشي . احفظ في الثلاجة في جو معقم لمدة لا تزيد عن أسبوعين .

يستخدم هذا الوسط لفحص قدرة بعض سلالات أو أنواع الـ Mycobateria على تحطيم الـ Tween 80 بسرعة وخلال 5 أيام إلى Oleic acid الذي يكشف عنه بتغير لون الكاشف .

Mannitol Salt Agar (MSA)

Beef extract	1 gm.
Proteose peptone No. 3	10 gm.
Nacl	75 gm.
Mannitol	10 gm.
Phenol red	0.025 gm.
Agar	15 gm.
D. H2O	1000 ml.

عقم الوسط باستخدام الأوتوكليف تحت 121 مئوية وضغط 15 باونداً لمدة 15 دقيقة ثم برد لدرجة 48م وصب في أطباق معقمة .

يستخدم هذا الوسط لعزل وتنمية الضار من المكورات العنقودية (Pathogenic Staph) حيث تموت الأنواع الأخرى من البكتيريا بسبب ارتفاع تركيز ملح الطعام في الوسط . تنمو هذه البكتيريا وتحاط بحلقة من اللون الأصفر مؤشراً إلى تخمير المانتول .

Bile Esculin Agar

Beef extract	3.0 gm.
peptone	5.0 gm.
Oxgall	40.0 gm.
Esculin	1.0 gm.
Ferric Citrate	0.5 gm.
Agar	15.0 gm.
D. H2O	1000 ml.

علق 64 جراماً من مسحوق الوسط في لتر من الماء المقطر وذوب بالتسخين حتى الغليان .

عقم في الأوتوكليف ثم برد حتى 55°م ثم أضف 50 سنتمتراً مكعباً من مصل حصان معقم (هذه الخطوة اختيارية) وامزج جيداً ووزع في أنابيب معقمة وضعها في وضع مائل حتى تتصلب . يستخدم هذا الوسط لتشخيص Group D Streptococci . حيث تظهر هذه البكتيريا مستعمرات سوداء بنية محاطة بحلقة سوداء . وتظهر البكتيريا *Listeria monocytogenes* نفس التفاعل السابق .

Hektoen Enteric Agar

Proteose peptone	12 gm.
Bile salts	9 gm.
Yeast extract	3 gm.
Lactose	12 gm.
Salicin	2 gm.
Sucrose	12 gm.
Nacl	5 gm.
Na - thiosulfate	5 gm.
Ferric - ammonium citrate	1.5 gm.
Agar	14 gm.
Acid fuchsin	.1 gm.
Bromthymol blue	.065 gm.
D. H2O	1000 ml.

سخن حتى الغليان ولا تعقم في الأوتوكليف ، برد حتى 50°م وصب في الأطباق . يستخدم هذا الوسط لعزل وتمييز الـ g - ve بكتيريا المعوية حيث تظهر العصيات القولونية coliform مستعمرات صفراء برتقالية بينما تعطي Salmonella و Shigella مستعمرات خضراء مزرقة .

Motility Test Medium

Beef extract	3 gm.
Gelysate peptone	10 gm.
Nacl	5 gm.
Agar	4 gm.
D. H2O	1000 ml.

أضـف المسـحوق إلى المـاء ثـم أضـف إليهمـا 0.05 جـرام مـن triphenyl tetrazolium ، سخن مع التحريك ثم اغل لمدة دقيقة واحـدة لتحقيـق الإذابـة . وزع في أنابيب ذات أغطية وعقم في الأوتوكليف .

يستخدم هذا الوسط لفحص حركة البكتيريا وذلك بطعنهـا لمرة واحـدة ثـم تقـرأ النتيجة بعـد 24 – 48 سـاعة تحـت درجـة 36°م . تظهـر البكتيريـا المتحركـة انتشـاراً إلى الخارج عبر خط الطعن ، بينما تنمو البكتيريا غير المتحركة داخل خط الطعن فقط .

Kligler's Iron Agar

هـو نفـس الوسـط T.S.I باسـتثناء احتوائـه علـى نوعـين مـن السـكر همـا الجلوكوز واللاكتوز ولا يحتوي السكروز ويستخدم لنفس الغاية الـتي يسـتخدم مـن أجلهـا الوسط T.S.I .

(Xylose Lysine Desoxycholate) XLD

Xylose	3.5 gm.
L - lysine	5 gm.
Lactose	7.5 gm.

Sucrose	7.5 gm.
Nacl	5 gm.
Yeast extract	3 gm.
Phenol red	0.08 gm.
Agar	13.5 gm.
Na - desoxycholate	2.5 gm.
Na - thiosulfate	6.8 gm.
Ferric ammonium citrate	0.8 gm.
D. H2O	1000 ml.

(Final PH 7.4)

علق المسحوق في الماء المقطر سخن وحرك بدون غلي ، انقل إلى حمام مائي بدرجة 50°م ثم صب في الأطباق حال برود الوسط ، يكون لون الوسط برتقالياً صافياً . إن إطالة التسخين أو الحفظ في الحمام المائي يؤدي إلى حدوث ترسيب وتغير في شكل المستعمرات يستخدم الوسط لعزل الـ Shigella .

ب- طرق عزل العينات النقية

Methods of isolating pure cultures

هناك عدة طرق يمكن استعمالها للحصول على نموات بكتيرية نقية تعتمد كلها على فكرة واحدة أساسية هي تخفيف تركيز الخلايا البكتيرية ، بحيث يصبح بالإمكان فصلها عن بعضها البعض .

تستعمل عادة أوساط غذائية في حالة الصلابة أو حالة "الجلي" لغرض العزل ، ومن بين الطرق المتبعة ما يلي :

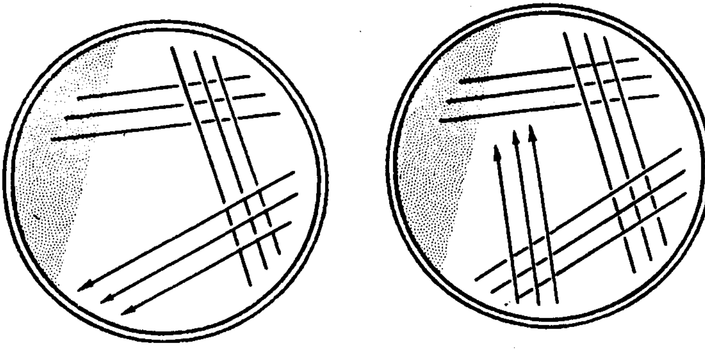
1. طريقة التخطيط The streak - plate

وتتم هذه العملية بنقل عدد من البكتيريا من وسط ما إلى وسط آخر ونشرها على مساحة معينة من سطح الوسط الجديد لتخفيف التركيز أو التجمع الخلوي ، ويستعمل في عملية النقل أداة صغيرة بسيطة عبارة عن سلك من البلاتين أو الكروم مثبت في نهاية حمالة على شكل القلم ومصمم بحيث توجد في نهاية السلك حلقة بقطر 3-4 ملم هي التي تستخدم في عملية نقل ونشر أو توزيع البكتيريا على سطح الوسط الغذائي المستعمل تسمى Wire loop . وعند القيام بعملية التخطيط هذه بالشكل المناسب فان الخلايا البكتيرية تتوزع على سطح الوسط الغذائي بشكل يؤدي بعد الحضانة إلى تكوين مستعمرات منفصلة لا اتصال بينها، وهو ما يضمن لنا إنتاج النمو البكتيري النقي المقصود. وتلخص خطوات العملية بما يلي : يعقم السلك باللهب ثم يبرد ويحمل بالبكتيريا النامية على الوسط ثم تنقل إلى سطح الوسط الجديد ، وتنشر هناك بطرق مختلفة تضمن توزيعها على سطح الوسط .

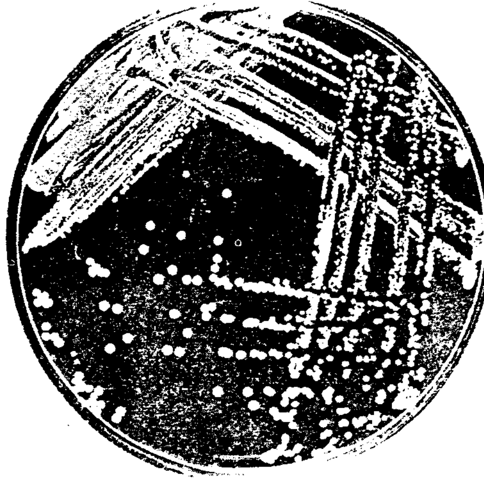
طريقة الزراعة :

يفضل ان تكون طريقة الزراعة بطريقة التخطيط ، وتتم العملية بأخذ العينة المراد زراعتها ونشرها على شكل خطوط مستقيمة 3 – 4 خطوط بوساطة Wire loop ثم حرق الـ Wire loop باللهب إذا كان العد ليس الهدف ثم تبريده ثم فرد أو نشر جزء من نهاية الخطوط الأولى ، ثم حرق الـ Wire loop باللهب ، ثم تبريده وتكرار العملية كما هو موضح في الرسم التالي .

تهدف هذه الطريقة الحصول على مستعمرات منفردة حيث تعتبر طريقة من طرق التخفيف .



طريقة التخطيط



الحصول على مستعمرات منفردة نتاجاً لاستخدام طريقة التخطيط

2. طريقة الصب The pour - plate technique

وهنا تتم عملية تخفيف تركيز البكتيريا في أنابيب اختبار تحتوي على الوسط الغذائي الصلب . وتتم عملية التخفيف باستعمال أكثر من أنبوب واحد لضمان عزل الخلايا عزلاً كافياً بسبب عدم معرفة التركيز الأصلي أو الكثافة الأصلية للتجميع الخلوي المدروس . ويتم إجراء الخطوات المتبعة في هذه الطريقة كما يلي :

1. تنقل شحنة بمقدار حلقة سلك "التلقيح" إلى أنبوب اختبار يحتوي على الوسط الغذائي المستعمل ، وهو في حالة سيولة ، ويجب أن لا تتعدى درجة حرارته درجة 45م .
2. تنقل عبوة سلك اخرى من هذا الأنبوب إلى أنبوب مماثل وتتكرر هذه العملية من الأنبوب الثاني إلى ثالث وهكذا .
3. تصب محتويات كل أنبوب في طبق بترى وينتظر حتى تتصلب وتوضع الأطباق في الحاضنة على درجة الحرارة المناسبة .
4. يتم بعد فترة الحضانة فحص كل من الأطباق المزروعة بحثاً عن الطبق الذي يحمل مستعمرات منفصلة ، وهو يشير إلى التخفيف المناسب لاستخلاص المزارع النقية .

3. التخفيف المتدرج Serial dilution :

وتعتبر هذه من أكثر الطرق المتبعة في مختبرات علم البكتيريا شيوعاً في عمليات تربية وزراعة البكتيريا ، وقد تستعمل أحياناً كوسيلة للحصول على مزارع نقية وإن كانت غير مفضلة لهذا الغرض ، وخطوات العملية كالتالي :

نبدأ بتحضير عدد من الأنابيب (عادة 6–9 أنابيب) نملؤها بحجم معين من الماء به بعض المواد الغذائية كالببتونات مثلاً ، ثم ننقل حجماً معيناً من البكتيريا التي يراد فحصها إلى أول الأنابيب وتخلط في المحلول خلطاً جيداً . غالباً ما يكون حجم البكتيريا المنقولة مقداراً بـ 1سم^3 من معلق بكتيري محضر سلفاً .

الخطوة التالية لذلك تكون نقل 1سم^3 من الأنبوب المحتوي على البكتيريا إلى الأنبوب الثاني ، وخلط البكتيريا به جيداً ، ويسمى الأنبوب الثاني التخفيف الأول . نكرر العملية من الأنبوب الثني إلى الأنبوب الثاني إلى الأنبوب الثالث ، ومن الثالث إلى الرابع وهكذا ، فلو كان في كل هذه الأنابيب مقدار 9 سم^3 من المحاليل تكون درجة

التخفيف في الأنبوب الثاني 10^{-1} والثالث 10^{-2} وهكذا . وهـذا مـا يسـمى "بـالتخفيف التدريجي" .

الجزء الثاني من هذه العملية هي زرع أو تربية عينات من كل أنبوب من تلـك الأنابيب في وسط غذائي صلب ، فينقل عـادة حجـم مقـداره 0.1 سـم^3 مـن كـل أنبـوب وتفرد على سطح الوسط الغذائي في طبق بتزى... كما ورد في الصفحات السـابقة ، وبعـد الحضانة على درجة الحرارة المناسبة ، يفحـص كـل طبـق ويحـدد عـدد المسـتعمرات الناميـة ويستخدم هذا العد لمعرفة أو تقدير عدد البكتيريا في العينة الأصلية المقصـود فحصهـا . وفي حالة التخفيف إلى درجة عالية ، فإن الأطباق المزروعة تعطي مسـتعمرات بكتيريـة منفصلـة تماماً ومميزة مما يجعل بالإمكان استعمال هذه الطريقة لعزل أو تحضير المزارع النقية .

جـ- تحديد حجم وشكل ولون المستعمرات البكتيرية

يعتمـد علـى الصفـات الزراعيـة للبكتيريـا كـأحد الأسـاليب المهمـة في تشـخيصها بالإضافة إلى الصفات الشكلية والكيميائية الحيوية والمصلية . فعند دراسة الصفات الزراعية لابد من مراعاة الأمور المهمة التالية :

1. نوع الوسط الزراعي المستخدم في التنمية أو العزل أو التشخيص .
2. درجة حرارة الحضانة .
3. درجة الـ PH التي بها الأوساط الزراعية .
4. التهوية ، إن كانت هوائية ، اختيارية أم مجبرة .
5. صفات المستعمرات ويشتمل ذلك على الصفات والخصائص التالية :

أ- حجم المستعمرات :

سواء كان الحجم صغيراً جداً مثل رأس الدبوس أو صغيراً أو متوسطاً أو كبيراً .

ب- لون المستعمرات :

وهنا يمكن أن يكون شفافاً لا لون لـه أو ابيـض أو رمادياً أو بنفسجياً أو احمـر أو أصفراً ... الخ وهنا لابد من التنبيه بأن لون المستعمرات البكتيرية للنوع الواحـد قـد يتغـير بتغير الوسط الزراعي المستخدم .

جـ - اللزوجة :

تظهر بعض أنواع البكتيريا مستعمرات لزجة أو متوسطة اللزوجـة أو غـير لزجـة ، وتفحص اللزوجة بمس المستعمرة بعود ورفعه إلى أعلى ، فـإذا تكـون خيـط تكـون لزجـة ، وإذا لم يتكون خيط تكون غير لزجة .

د- الرطوبة :

تنتج أنواع من البكتيريا مستعمرات رطبة وأخرى جافة .

هـ- سطح المستعمرة :

قد يكون أملس أو خشناً ، لامعاً أو قاتماً من دون لمعان، مقبباً أو محدباً أو منبسطاً .

و- حافة المستعمرة :

قد تكون حافة المستعمرة دائرية منتظمة أو غير منتظمة ، دائرية أو متعرجة أو مسننة منشارية .

الوحدة الرابعة

نمو وتكاثر البكتيريا

أ – المخطط البياني للنمو .

ب– تعداد البكتيريا في الأوساط السائلة باستعمال الطيف الضوئي .

ج– جينات البكتيريا وتغييرها .

صبغة الحبيبات متغيرة الأصباغ "حبيبات الدفتيريا"

Metachromatic granule stain

Albert stain

يستعمل هذا الصبغ للـ *C. diptheria* :

1. حضر الفيلم على الشريحة وثبت بواسطة اللهب .
2. اغمر الشريحة بصبغة Albert لمدة 3 –5 دقائق .
3. اغسل باستعمال ماء الحنفية وتخلص من باقي الماء على الشريحة .
4. اغمر الشريحة بمحلول اليود المستعمل في صبغة جرام ولمدة دقيقة .
5. اغسل وجفف وافحص .

تظهر الحبيبات بلون أزرق داكن، ويظهر محيط الخلية بلون أزرق مخضر، ويظهر السايتوبلازم بلون أخضر .

تتركب صبغة Albert كما يلي :

Toluidine blue	1.5 gm.
Malachite green	2.0 gm.
Glacial acetic acid	10 gm.
Alcohol (95% ethanol)	20 ml.
Distilled water	1000 ml.

أذب الأصباغ في الكحول ثم أضف إلى الماء وحامض الأستيك وانتظر لمدة يوم ثم رشح .

Neisser's method

Neisser's methylene blue stain :

Methylene blue	**1 gm.**
Ethyl alcohol (95%)	**50 ml.**
Glacial acetic acid	**50 ml.**
Distilled water	**1000 ml.**

خطوات العمل :

1. اغمر الشريحة مستعملاً الصبغة السابقة .
2. اغسل بمحلول اليود المخفف .
3. اغسل بالماء .
4. اغمر الشريحة بإضافة **Neutral red solution** لمدة 3 دقائق .

ستظهر الحبيبات بلون أزرق غامق وتظهر باقي أجزاء الخلية باللون الزهري .

Loeffler methylene blue stain

Methylene blue	**0.3 gm.**
Ethyl alcohol, 95%	**30 ml.**
Distilled water	**100 ml.**

اغمر اللطخة **Smear** المثبتة باللهب بمحلول الصبغة، ولمدة دقيقة واحدة ثم اغسل بالماء وجفف، ثم افحص تحت المجهر .

يحتاج هذا التحضير إلى إضافة القاعدة بواقع لتر واحد من القاعدة **(KOH , 0.01% in water)** إلى كل 300 مللتر من المحلول السابق .

Staining formulate & procedure تركيب الأصباغ

1) Acid - fast stain :

لمعرفة التركيب والتحضير وخطوات العمل ، ينظر صفحة

2) Gram stain :

Reagents :

a. Stock crystal violet

Crystal violet, 85% dye...........20 gm.

Ethanol, 95%.........100 ml :

b. Stock oxalate solution :

Ammonium oxalate............1 gm.

Distilled water ....100 ml.

خفف محلول Stock crystal violet sol. بنسبة 1 : 10 مع الماء المقطر وامزج مع أربعة أضعاف من محلول Stock oxalate .

c. Gram iodine solution :

Iodine crystals ....1 gm.

Potassium Iodide (KI) .. 2 gm.

أذب المادتين تماماً مع 5 مللتر من الماء المقطر ثم أضف :

Distilled water .... 240 ml.

Sodium bicarbonate 5% aqueous sol... 60 ml.

امزج جيداً واحفظ في قنينة داكنة .

d. Decolorizer مزيل اللون :

Ethanol 95% .... 250 ml.

Acetone .... 250 ml.

امزج واحفظ في قنينة ذات غطاء .

e. **Counter stain** الصبغة البديلة :

Stock safranin

Safranin 0...... 2.5 gm.

Ethanol, 95% .... 100 ml.

خفف محلول Stock safranin بنسبة 1 : 5 أو 1 : 10 مع الماء المقطر واحفظ في قنينة ذات غطاء .

خطوات العمل Procedure

1. حضّر فيلماً رقيقاً من المواد المراد فحصها، جفف وثبت بتمرير الشريحة فوق اللهب مرة أو مرتين .
2. اغمر الشريحة بصبغة Crystal violet لمدة 10 ثوان .
3. تخلص من الصبغة الباقية على الشريحة مستعملاً محلول اليود .
4. اغمر الشريحة بمحلول اليود لمدة 10 دقائق .
5. اغسل الشريحة بالماء الجاري وتخلص من أي ماء على الشريحة بإمالتها .
6. أضف مزيل اللون وهو 95٪ الكحول أو محلول Alcohol- acetone حيث تأثيره أسرع حتى يصبح المحلول على الشريحة من دون لون . وهذا يستغرق 10 – 20 ثانية ويعتمد على سمك الفيلم، ويجب ملاحظة عدم إزالة اللون لفترة تزيد عن المحدد وذلك لعدم قراءة نتيجة غير صحيحة إذا استخدم الكحول 95٪ فقط فتحتاج الخطوة إلى 60 ثانية
7. أضف صبغة الـ Safranin لمدة 10 ثوان ثم اغسل بالماء .
8. جفف بوضع الشريحة بين ورقتي ترشيح وافحص تحت العدسة الزيتية بعد إضافة قطرة زيت على الشريحة .

الوحدة الثالثة

صبغ البكتيريا

أ - تحضير صبغات البكتيريا

ب- طرق الصبغ .

فسرت المدى الواسع للجراثيم في الطبيعة على أنها مراحل مختلفة من دورة حياة أنواع قليلة منها .

رغم ذلك فإنه بعد أن قدم Koch تقنيات الزراعة النقية ، اختفى كثير من التغيرات الظاهرة، وقاد هذا إلى مبدأ وحدانية الشكل Monomorphism . ولكن قاد نجاح ذلك إلى مبالغات في التأكيد على استقرار صفات الجراثيم، وحيث ان البكتيريا لا تحتوي على نواة، فإنه من المعتقد بأن توارثها كان يقوم على أساس صفاتها الشكلية الغامضة . وهكذا فقد كان هناك تأخير طويل في التعرف على ان التغير الجرثومي قد بني على عمليتين كأساس لجميع الكائنات الحية، وهما :

1. الطفرة Mutation . 2. الاختيار Selection .

وهذا ينتج تغيراً جينيا في الكائنات في الحالة الأولى وتغيراً وظيفياً (تكيف وظيفي) في الحالة الثانية .

وقد ساهم في هذا التأخير عدد من العوامل وهي :

1. ندرة ظهور الخلايا التي تخضع للطفرة المفاجئة من بين الأعداد الكبيرة من - الأجيال البكتيرية .
2. تتطلب إعادة الارتباط الجيني التعرف على الوحدات الوراثية المتصلة بالكروموسوم ولكنها لم تكتشف إلا في عام 1940 م .
3. قد يؤدي التغير الجيني والوظيفي إلى نفس التغير الوظيفي مثل تكون المحفظة (الكابسول) ولم يتم تطوير فكرة التمييز بين العمليتين لوقت متأخر .

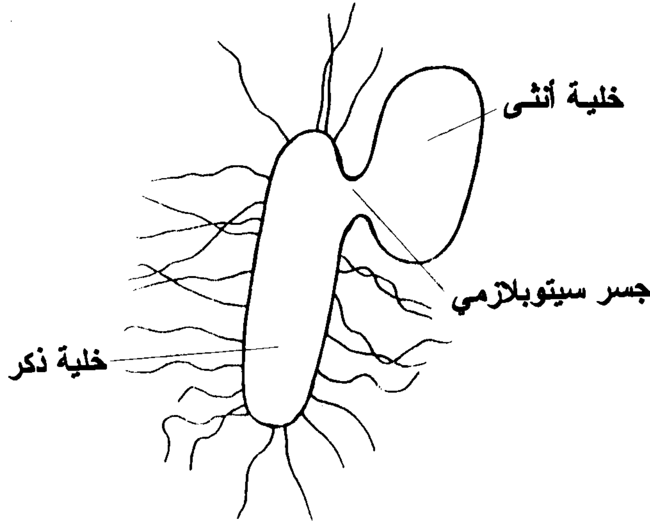
مع أن معيار ومقياس التمييز بين العمليتين بسيط بحيث يتمثل في أن التغير الوظيفي يحصل لجميع الخلايا التي زرعت بينما التغير الجيني يحصل لعدد قليل من الخلايا ، وتتصف الخلايا المتغيرة بسرعة نموها عن الخلايا الأم لأنها تكيفت بشكل أفضل مع البيئة التي تتواجد فيها .

إن كثيراً من التغيرات الوراثية قد شوهدت في البكتيريا خلال زراعتها، وهذه التغيرات توضح أهمية تكيفيه (يعني زيادة تكيفها مع البيئة الجديدة) ، حيث أننا في الزراعة الأولية للبكتيريا الضارة من عينة من جسم الإنسان نلاحظ عدم نموها بشكل جيد، بينما عند نقلها من الوسط الأول إلى وسط آخر نلاحظ زيادة سرعة نموها ، وهذا دليل على تكيفها الإيجابي مع البيئة الجديدة. وهذا التكيف يكون ملازماً لنقص قدرة البكتيريا على النمو داخل جسم الكائن الحي (أي على إحداث الإصابة) . وإذا رغبنا في استعادة قدرتها على الإصابة، فيجب حقنها في جسم كائن حي، وأنه من الملاحظ بأن استمرارية نقل البكتيريا والفيروسات من وسط زراعي إلى آخر عدة مرات تحت ظروف غير عادية يقود إلى فقدان كبير من حدة إصابتها مما يفيد في تحضير المطاعيم .

د – عد المستعمرات Colony counting

يتم عد المستعمرات النامية بالعين المجردة لإمكانية مشاهدتها، وفي هذه الحالة يجب أخذ كمية من العينة ، فمثلاً أخذ 0.1 سم^3 من عينة الماء ونشرها على سطح الوسط الصلب ووضع الطبق في الحاضنة، في اليوم التالي نأخذ الطبق ونعد المستعمرات النامية ونضرب العدد في 10 لكي نخرج بالعدد النهائي / سم^3 من عينة الماء. ونقول إن عدد البكتيريا في كل سم^3 من العينة كان كذا، ويعتمد ذلك على اعتبار أن كل مستعمرة بعد فترة الحضانة تمثل خلية واحدة كانت في العينة، فكونت مستعمرة بعد النمو .

يمكن استخدام جهاز عد المستعمرات Colony counter تجنباً لحدوث خطأ في عملية العد، ويتم ذلك بوضع الطبق في المكان المخصص لذلك ، وتحته إضاءة جيدة وورقة مقسمة إلى مربعات، ثم بوساطة مقبض في رأسه دبوس موصول في دائرة كهربائية.نبدأ بوضع رأس الدبوس على سطح كل مستعمرة، ويكون العد ذاتياً في الجهاز ونميز بين المستعمرة التي تم عدها من التي لم تعد من مظهر سطحها بحيث يتغير سطح التي تم عدها بسبب لمسها برأس الدبوس. ويساعد استعمال الورقة المقسمة إلى مربعات على دقة العد خوفاً من عدم عد مستعمرات معينة أو عد مستعمرات أكثر من مرة وذلك بتقسيم الطبق إلى مربعات والبدء بالعد أفقياً أو عمودياً .



التكاثر الجنسي **Conjugation** الذي يحدث في البكتيريا

التحول **Transformation** :

عند زراعة عدد من سلالات البكتيريا بوجود خلايا ميتة أو راشح النمو البكتيري أو مستخلصات الخلية النووية (**DNA**) لسلالة قريبة من النوع الأول، فإن النوع الأول الحي سوف يكتسب ومن ثم يمرر الصفات التي اكتسبها من السلالة الميتة أو راشح نموها أو مستخلصاتها النووية .

فمثلا لو زرعنا النوع الثاني من المكورات الرئوية **Type II pneumococci** التي تحوي محفظة (كابسول) مع النوع الثالث **Type III** التي لا تتصف باحتوائها المحفظة، وحيث أن النوع الأول كان ميتاً، وتم حضن النوعين معاً في طبق واحد ، فان النوع الثاني سوف يكتسب صفة وجود المحفظة من النوع الأول رغم ان النوع الأول ميتاً. تسمى هذه الظاهرة بالتحول **Transformation** .

الانتقال العارض Transduction

تتم هذه العملية من نقل المواد الجينية من خلية إلى أخرى بمساعدة فيروس يسمى الفيروس البكتيري Bacteriophage .

يدخل الفيروس إلى داخل الخلية البكتيرية ليتطفل عليها فيأخذ من كروموسوم الخلية البكتيرية، ونقول : إن جينات الفيروس قد تلوثت بجينات الخلية البكتيرية، فتنفجر الخلية البكتيرية ويتحرر الفيروس، ليغزو خلايا بكتيرية جديدة حيث يدخل إليها ويتبادل معها المعلومات الوراثية بدورة لا تؤدي إلى تفجير الخلية البكتيرية ، و تسمى هذه الحالة Lysogeny ، وهكذا تكون الخلية البكتيرية قد اكتسبت معلومات جينية جديدة تؤدي إلى ظهور سلالات جديدة. وقد ظهرت هذه العملية في أنواع مختلفة من البكتيريا .

الطفرة Mutation

تعرف الطفرة بتغير مفاجىء في الجين سواء كان من دون مستحثات أو بمستحثات لهذا التغير، ويتم توارث هذا التغير في الأجيال المتعاقبة .

تحدث الطفرة خلال نمو البكتيريا الطبيعي، لكن تعتبر نادرة الحدوث آخذين بعين الاعتبار جميع الخلايا البكتيرية . تسمى الخلية البكتيرية التي تخضع للطفرة بـ Mutant . يمكن حفز الطفرة صناعياً بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية أو للمركبات الكيميائية مثل كلوريد المنغنيز وغاز الخردل .

يسمى العامل المسؤول عن الطفرة أو المسارع لمعدلها بـ Mutagen .

التغير Variation

لقد قادت التغيرات الكبيرة لصفات البكتيريا والتي شوهدت من جراء نقل النمو البكتيري بشكل متكرر إلى افتراض مبدأ تعدد الأشكال Pleomorphism ، والتي

ب- تعداد البكتيريا في المنابت السائلة باستعمال الطيف الضوئي

يمكن معرفة عدد خلايا البكتيريا في وسط سائل من خلال تمرير حزمة ضوئية عبر أنبوب يحتوي على معلق للبكتيريا، سيشكل النمو البكتيري عائقاً لمرور الضوء من خلاله ، ويتم امتصاص وتشتيت الشعاع أثناء مروره من خلال المعلق البكتيري ، وهذا يقود إلى نقص كمية الأشعة (الضوء) الذي يمر عبر أنبوب معلق البكتيريا. وهكذا فإن كمية الضوء التي تمر يمكن قياسها بدقة، وسوف تمثل عدد الخلايا البكتيرية الموجودة في المعلق .

وبدقة أكبر، فان كمية الضوء المارة تتناسب مع كمية بروتوبلازم البكتيريا حيث إن الخلية الكبيرة سوف تمتص كمية ضوء أكبر من الخلية الصغيرة، أي إن الخلية الكبيرة سوف تقلل من كمية الضوء المارة من خلالها بعكس الخلية الصغيرة، وتسمى هذه التقنية قياس العكورة **Turbidimetry** ، وتعتبر هذه الطريقة مألوفة في خطواتها، وتؤخذ النتيجة فوراً . وهناك الأجهزة العديدة والمتوفرة في الأسواق لتطبيق هذه التقنية .

وتشبه هذه الطريقة طرق تحديد تركيز المواد الكيميائية في مصل الإنسان مثل السكر، والبروتين وغيرها، ويتم تحديد طول الموجة المستخدمة لأخذ القراءات على أساس طول الموجة التي تظهر أعلى درجات الامتصاص .

جـ - علم جينات البكتيريا Bacterial Genetics

تعريفات :

1- **Genotype** : جميع الجينات الموجودة في الخلية .
2- **Phenotype** : نظام الصفات الوظيفية والشكلية المسيطر عليها جينياً .
3- **Genome** : مجموعة من الجينات .

4- Episomes : عناصر الجين سواءً كان حراً في السيتوبلازم أو متحداً مع الكروموسوم .

التزاوج (الاقتران) Conjugation :

رغم أن الأسلوب الشائع في تكاثر البكتيريا هو الانقسام الانشطاري (غير الجنسي)، الا ان التفكير في احتمالية التكاثر الجنسي ، قد بقيت لسنين طويلة حتى تم إنجاز ذلك عام 1946 م بوساطة Tatum & Lederberg . والدليل على حدوث التكاثر الجنسي هو هذه الظاهرة .

تمت تنمية سلالتين مختلفتين من بكتيريا *E. coli* ، كل واحدة تمتلك صفات محددة مميزة، وبينهما اختلاف في تفاصيل ثانوية.

بعد انقضاء فترة الحضانة تم نقل الخلايا إلى أطباق لفحص صفاتها ووجد أن نسبة بسيطة لكنها مهمة من سلالة جديدة قد عزلت من الطبق ووجد أن هذه السلالة تمتلك صفات مشتركة من السلالتين الأم .

والذي قد يحدث في هذه الحالة أن ارتباطاً مباشراً بين الخليتين يحدث عبر جسر بحيث تنتقل مجموعة من الجينات من خلية تسمى معطية أو خلية ذكر F^+ خلال هذا الجسر إلى الخلية الأخرى المستقبلة والتي تسمى خلية أنثى F^- ، حيث يتم إعطاء الجينات من الخلية الذكر المعطية إلى الخلية المستقبلة مما يقود إلى ظهور خلية بصفات وراثية جديدة تجمع بين النوعين .

ويستغرق مرور خيط الكروموسوم إلى الخلية المستقبلة وقتاً، وضحته إحدى التجارب بأنه يحتاج إلى 30 – 50 دقيقة .

أ – منحنى نمو البكتيريا Bacterial Growth Curve

إذا حقنا عدداً معيناً من البكتيريا في وسط طازج، واستطعنا معرفة عدد البكتيريا بعد فترة الحضانة، ولتكن 24 ساعة تقريباً ورسمنا رسماً بيانياً للغرتمات عدد الخلايا البكتيرية مقابل الزمن بالساعات سيكون الناتج المنحنى الموضح تالياً، ومن هذا المنحنى يظهر لنا فترة بدائية لا يظهر فيها نمواً أو زيادة في العدد، وتتبعها فترة نمو سريعة ثم سكون، ثم تبدأ الخلايا بالموت التدريجي .

1. الطور التمهيدي Lag phase

وفي هذا الطور لا يحدث زيادة في العدد، ويبقى العدد ثابتاً بشكل مؤقت، بينما تزداد الخلايا في الحجم فوق معدلها الطبيعي، وتكون نشيطة جداً من الناحية الوظيفية، وتقوم بتكوين المواد البروتوبلازمية والأنزيمات ومساعدات الأنزيمات Co-enzymes، وفي نهاية هذا الطور تبدأ كل خلية بالانقسام،وطالما أن جميع الخلايا لا تكمل هذا الطور في نفس اللحظة سيكون انقسامها في الطور التالي تدريجياً .

2.الطور التضاعفي Exponential phase, Log. phase

الطور التضاعفي أو الاسي : وفي هذا الطور تنقسم الخلايا بشكل ثابت وبمعدل يعتمد على زمن التضاعف Generation time لكل نوع من البكتيريا. وتحت الظروف الطبيعية يكون أعلى معدل للنمو في هذا الطور، وتكون جميع الخلايا متجانسة في المحتوى الكيميائي والنشاط الحيوي والصفات الفسيولوجية (الوظيفية) الأخرى .

3.طور السكون Stationary phase :

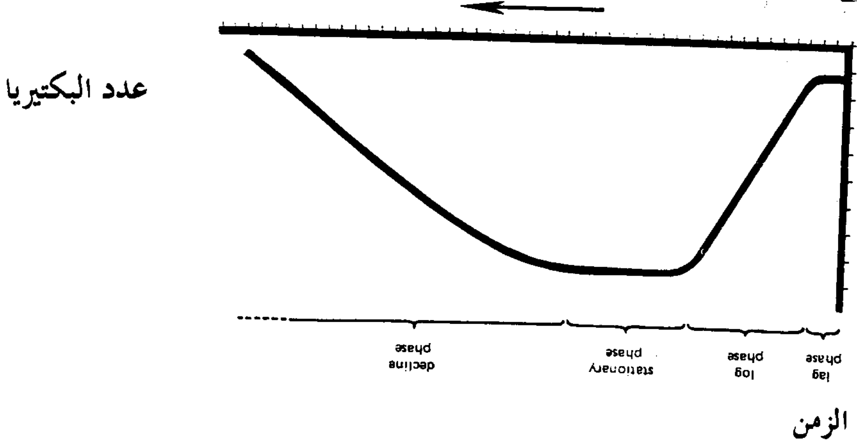
يسمى طور السكون، وفي هذا الطور لا يحدث زيادة في العدد ، ويتمثل هذا الطور بخط مستقيم، ويعزى ذلك إلى :

أ- استهلاك بعض المواد الغذائية، وهذا هو الأساس .

ب - إنتاج بعض المواد السامة خلال النمو .

4. طور الموت Death or decline phase

طور الموت، وفي هذا الطور يبدأ موت البكتيريا بمعدل أسرع من معدل نموها، وسبب الموت عدم توفر الغذاء وتراكم السموم مثل الأحماض، ويمكن أن يستمر معدل الموت إلى عدة أيام ، ويمكن أن تموت البكتيريا خلال 2 - 3 أيام ، ويعتمد ذلك على نوع البكتيريا .



الزراعة المستمرة Cotinous culture

من أجل الحصول على نمو مستمر يجب المحافظة على الطور الثاني . ويمكن تحقيق ذلك من خلال :

أ) الحصول على النمو الأصلي من الطور الثاني .

ب) إزالة المواد السامة من الوسط بشكل متواصل .

ج) التزويد المستمر بالغذاء الجديد ، ويستعمل النمو المستمر للغايات الصناعية حينما تحتاج إلى كميات كبيرة من النمو البكتيري، وتستعمل الزراعة المستمرة في الأبحاث حيث يتم إخضاع النمو البكتيري لمختلف التجارب عندما تكون في طور محدد أي تثبيت طور محدد النمو لمعرفة تأثير متغيرات أخرى .

الوحدة الخامسة

اختبار التحسس للمضادات الحيوية

أ – تعريف واستعمالات ومجموعات المضادات الحيوية وكيفية ظهور مقاومة البكتيريا لها .

ب– طريقة Kirby - Bauer في اختبار تحسس البكتيريا للمضادات الحيوية

جـ– أقل تركيز للمضادات الحيوية MIC .

د – تحديد البكتيريا الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية حسب جدول Kirby - Bauer

أ – تعريف واكتشاف المواد الكيميائية والمضادات للجراثيم واستعمالاتها وكيفية ظهور مقاومة البكتيريا لها :

تعرف المضادات الحيوية بأنها مواد عضوية تنتجها كائنات دقيقة خاصة الفطريات وتقوم بقتل كائنات دقيقة أخرى مثل البكتيريا . بينما تعرف المواد الكيميائية المضادة للجراثيم Chemotherapeutic agents بأنها مواد عضوية تركيبية تكون قاتلة للجراثيم أو حتى لخلايا الإنسان كما هو الحال في أدوية معالجة السرطان .

أول من اكتشف البنسلين كان عام 1929م ولكن لم يتم استخلاصه بشكل نقي، وفي عام 1938م تم استخلاص أحد أشكال البنسلين بشكل مرضٍ .

في عام 1935 تم اكتشاف الـ Sulfonamide حيث كانت بداية الثورة خاصة في ممارسة الطب .

ابتدأ علم المداواة الكيميائي Chemotherapy بأبحاث العالم Ehrlich عام 1904 م حيث بدأ في البحث عن علاج فعال لمرض الزهري، ومنذ ذلك الحين تم اكتشاف العديد من الأدوية الفعالة ضد معظم الأمراض الناجمة عن البكتيريا والأوليات وغيرها .

آلية عمل المضادات الحيوية في البكتيريا وتقسيماتها الأساسية :

تنقسم آلية قتل المضادات الحيوية للجراثيم إلى قسمين هما :

1. موقفة لنمو البكتيريا Bacteriostatic

وهذه توقف النمو بمنع التخليق الحيوي لبروتينات الخلية وأحماضها النووية والتأثير على النشاط الإنزيمي .

قاتلة للبكتيريا Bactericidal

وتقوم هذه بمنع تخليق جدار الخلية أو غشاء السيتوبلازم، فقد يؤثر المضاد الحيوي الواحد لكي يكون موقفاً لنمو البكتيريا بجرعته الدنيا، وقاتلاً بجرعته العليا .

مجموعات المضادات الحيوية :

أ – Sulfonamide :

يشابه هذا المضاد الحيوي في تركيبه الكيميائي تركيب para amino benzoic acid (PABA) اللازم لتكوين حامض الفوليك Folic acid فيحدث أن يتحد الـ Sulfonamide مع الأنزيمات التي تعمل على استقلاب (PABA) لتكوين حامض الفوليك ، وهذا الاتحاد يمنع من تكوين حامض الفوليك الأمر الذي يمنع نمو الجراثيم .

ب– البنسلين Penicillin :

يؤثر البنسلين على جدار الخلية، بحيث يمنع تكوين جدار الخلية ويتكون جدار الخلية على مراحل ثلاث هي :

1. تشكيل الـ N- acetyl muramic acid, N- acetylglucose amine
2. تشكيل الـ Peptido طولياً .
3. تشكيل الـ Peptido عرضياً .

ويؤثر البنسلين كذلك على تركيب الأحماض والبروتينات النووية .

جـ – Aminoglycoside

يقوم هذا المضاد الحيوي بارتباطه بالريبوسومات بحيث يحد من نشاطها في تكوين البروتين .

د– Tetracyclines

يقوم بتثبيط تكوين البروتينات من خلال ارتباطه مع الأحماض الأمينية والمحتوية على عنصر الكبريت .

هـ - Chloromphenicol

يقوم هذا المضاد الحيوي بتأثيره على تكوين البروتين حيث يقوم بتنشيطه من خلال تأثيره على الحامض النووي RNA .

و- Cephalosporins

يؤثر هذا المضاد الحيوي على المرحلة الثالثة من مراحل تكوين جدار الخلية البكتيرية .

طرق استعمال المضادات الحيوية ومضارها العامة في الإنسان :

يفضل استخدام المضادات الحيوية بعد القيام بعزل مسبب المرض (الالتهاب) ومعرفة حساسية المسبب للمضادات الحيوية. وعند تعاطي المضادات الحيوية يجب مراعاة ما يلي :

1. التأكد من عدم تحسس المريض للمضاد الحيوي المراد تعاطيه، وذلك خوفاً من حدوث صدمة تحسسيه. هناك تفاوت بين درجة خطورة المضادات الحيوية في تسببها للحساسية للمريض، ويمثل البنسلين أكثر المضادات الحيوية المحتمل إنتاجها للحساسية والتي قد تودي بحياة الإنسان. لذلك يجب التأكد من عدم إظهار المريض لأعراض الحساسية للمضاد الحيوي المرغوب فيه بإجراء فحص الحساسية الجلدية .
2. عند إعطاء أكثر من نوع من المضادات الحيوية مع بعضها البعض يجب التأكد من أن لا يكون لأحد المضادات تأثير سلبي على مفعول الآخر، أو المشاركة بين أكثر من نوع لا يضعفها، مثل مشاركة البنسلين مع الـ Chloromphenicol أو مع الـ Tetracycline يضعف تأثير كل منها، ولا يوصى بمشاركة المضادات الحيوية القاتلة للبكتيريا مع المضادات المثبطة لها.
3. عند تعاطي المضادات الحيوية يجب الاستمرار في تناولها حتى بعد اختفاء الأعراض السريرية بحوالي 48 ساعة، وعدم اكتمال الجرعات لا يؤدي إلى القضاء التام على المسبب، وهذا قد يؤدي إلى الانتكاسة في الإصابة .

4. يجب عدم أخذ المضاد الحيوي لفترات زمنية طويلة خوفاً من ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لهذا المضاد، وتنشأ المقاومة لدى هذه السلالات إما بالتكيف أو بالطفرة. وينصح في هذه الحالة بتعاطي مضادات حيوية مختلفة لنفس الحالة المرضية في فترات زمنية مختلفة .

اختيار المضادات الحيوية المناسبة لإجراء فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية :

عند إجراء فحص الحساسية لعدد كبير من العينات المرضية والتي عزل المسبب منها، فإنه من الضروري تحديد عدد أقراص المضادات الحيوية المستعملة في الفحص، وعلى الطبق الواحد . ويفضل عدم استخدام أكثر من ثمانية أقراص في أي حال من الأحوال .

يجب أن يعكس اختيار الفني للمضادات الحيوية المستعملة في الفحص تكرار استعماله للأدوية المختلفة .

ويعكس كذلك نماذج الحساسية لمسببات الأمراض المستوطنة في المنطقة . وإليك أمثلة على اختيار المضادات الحيوية المستعملة :

1. لزراعة عينات غير البول مثل الدم والإفرازات والقيح والبلغم ومسحات الجروح والمخاط: يفضل استخدام **Gentamycin, Tetracycline, Penicillin(Benzyl), Cotrimoxazole, Ampicillin (Streptomycin or cephalosporine)** أو **Erythromycin** .
2. لزراعة عينات البول : يفضل استخدام أقراص تحوي تركيزاً عالياً من **Kanamycin, Sulphonamide, Nitrofurantoin, Nalidixic acid, Contrimoxazole, Ampicillin (Tetracycline** أو **Cephalosporine)**
3. إذا كانت البكتيريا المعزولة من العينة هي المكورات العنقودية **Staphylococcus** يفضل استخدام **Lincomycin, Tetracycline, Penicillin (Benzyl), Contrimoxazole, Erythromycin** أو **Fucidin, (Clindamycin)** أو **Novobiocin** أو **Gentamycin**

4. للبكتيريا الكروية الأخرى والبكتيريا الموجبة لصبغة جرام يفضل استخدام: (Benzyl) Penicillin, Erythromycin, Contrimoxazole, Cephaloridine, Ampicillin ,Tetracycline

5. لمعظم العصويات السالبة لصبغة جرام يفضل استخدام :

Streptomycin أو Contrimoxazole , Cephaloridine , Ampicillin (Sulphonamide) أو (Kanamycin) ثم Tetracycline ، وعندما تكون البكتيريا *Salmonella typhi* يمكن استعمال Chloramphenicol .

6. للبكتيريا Haemophilus يوصى باستخدام :

Sulphonamide, Cotrimoxazole, Chloramphenicol, Cephaloridine, Ampicillin, Tetracycline .

7. للبكتيريا *Ps. aeruginosa* ، يوصى باستخدام Colistin, Carbenicillin أو Polymyxin B ثم Gentamycin .

8. للبكتيريا Clostridia والعصويات اللاهوائية السالبة لصبغة جرام يوصى باستخدام :

(Benzyl) Penicillin, Fucidin, Clindamycin, Ampicillin ثم Tetracycline .

كيفية ظهور مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية :

أول ما اكتشفت ظاهرة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية كانت مع إرلخ Ehrlich في الأوليات .

تعتبر المشكلة مهمة سريرياً مع عدد من أنواع البكتيريا مثل T.B,Staph, Enterococci ويدل مصطلح مقاومة الأدوية على تغيرات جينية والتي تستمر بالزراعة المتكررة وفي غياب الدواء أي تصبح صفة ثابتة . ولا يدل هذا المصطلح على التكيف البيئي .

تنشأ السلالات المقاومة للأدوية إما بغزوها بوساطة Plasmid ، والذي هو عبارة عن جين إضافي غير كروموسومي الأصل، أو بوساطة الطفرة .

ربما يشمل تعبير المقاومة الجينية (Genotypic) مختلف آليات غير جينية أي بيئية(Phenotypic) ، يبدو أن المقاومة لنفس العلاج ربما تعتمد على آليات مختلفة في سلالات مختلفة .

ب- طريقة Kirby - Bauer في فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية

يجب إجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية باستعمال نمو نقي، وليس خليطاً من أكثر من نوع من البكتيريا، وإذا ما أجري الفحص ولأي سبب على خليط من النمو فإنه لابد من متابعة إجراءات الفحص باستعمال نمو نقي من النمو الخليط Pure subcultures .

من إيجابيات طريقة Kirby - Bauer أنها تضبط وتعاير معظم العوامل التي تؤثر في حجم حلقة القتل حول القرص باستثناء عامل تحسس البكتيريا للمضاد . وهذه العوامل هي حجم النمو المحقون في الوسط ، و PH الوسط وعمق(سمك) الوسط في الطبق، وتركيز مادة الأجار ، ومعدل انتشار المضاد الحيوي .

الخطوات :

1. انقل خمس مستعمرات من النمو النقي المراد فحصة من الطبق الأصلي إلى أنبوب اختبار يحوي 4 سم من Trypticase soy broth و 1٪ مستخلصات الخميرة . ينشط هذا الوسط معظم أنواع البكتيريا باستثناء *H. influenzae* ، لذلك لا ينصح باستخدام هذه الطريقة في فحص البكتيريا صعبة الإرضاء مثل *H. influenzae* لأنها تحتاج إلى Chocolate agar .
2. ضع الأنبوب في الحاضنة لمدة 2- 5 ساعات لإنتاج معلق متوسط العكورة .

3. خفف المعلق إذا كان ذلك ضرورياً بالماء المعقم أو المحلول الملحي إلى درجة مساوية للكثافة المرئية بالعين للمحلول المعياري لكبريتات الباريوم الذي يحضر بإضافة 0.5 سم^3 من 1.17٪ من كلوريد الباريوم المائي ($Ba\ Cl_2.2\ H2O$) إلى 99.6 سم^3 من 1٪ حامض الكبريتيك (Normality 0.36) . يجب تحضير المحلول المعياري كل شهر وحفظه في الظلام في حالة عدم الاستخدام .

تجرى هذه الخطوة لتحديد حجم النمو المحقون على الطبق وهي الخطوة المهمة جداً في التأثير على سعة حلقة النمو (هناك طرق أخرى أقل شيوعاً في التطبيق مثل عد الخلايا مجهرياً باستخدام شريحة Petroff - Hausser chamber أو بقياس الكثافة الضوئية للنمو في الوسط السائل .

4. لعمل تجربة الحساسية يفضل استعمال طبق كبير قطرة 15 سنتمتراً محتوٍ على وسط صلب لهذه التجربة Sensitivity agar بسمك 4 ملم. يمكن وضع اثني عشر قرصاً على الطبق الكبير، بينما في حالة استعمال الصغير يجب عدم استخدام أكثر من ستة أقراص. من الأفضل وضع الأقراص التي تحمل مضاداً حيوياً واسع الانتشار بجانب محيط الطبق والتي تحمل مضاداً حيوياً قليل الانتشار في وسط الطبق مثل Colistin, Polymyxin B, Vancomycin ثم Kanamycin .

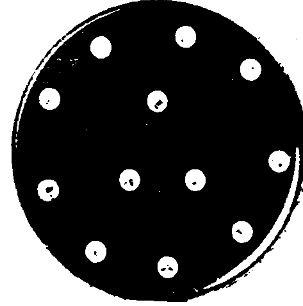
5. تحقن الأطباق خلال 15 دقيقة بالنمو المخفف بشرط ألاّ تتغير معايرة المعلق وينشر النمو بالتساوي في اتجاهات مختلفة باستخدام الماسحة القطنية Cotton swab بحيث يغطي سطح الطبق بالكامل، ولا يستخدم الـ Wire loop لهذه الغاية . عند غمر الماسحة Swab في معلق النمو يلف على جدار الأنبوب الداخلي للتخلص من الزيادة العالقة على الماسحة Swab .

6. ينتظر 3 – 5 دقائق ليجف سطح الطبق من النمو، ثم توزع أقراص المضادات الحيوية بشكل متناسق أو بملقط معقم باللهب، ويضغط بلطف فوق القرص لضمان التماس مع سطح الوسط .

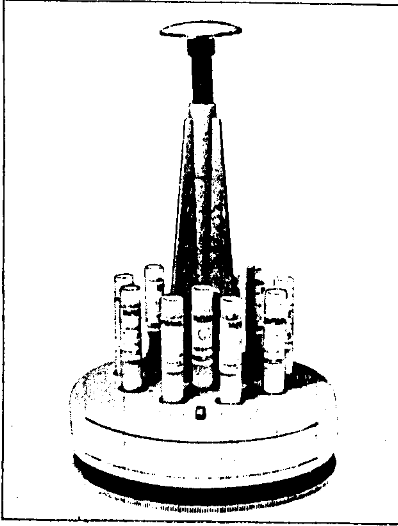
7. توضع الأطباق في الحاضنة خلال 15 دقيقة، لليوم التالي تحت 37 م وفي غياب ثاني أكسيد الكربون (هوائياً) .

8. في اليوم التالي، يتم قياس قطر الحلقات بما فيها التي تكون 6 ملم بمسطرة أو أي مقياس آخر مناسب ، وعلى أسفل الطبق. يدل القياس 6 ملم على عدم وجود حلقة أي غير حساسة . إذا كان الوسط يحوي دماً فيجب أن يتم أخذ القراءات على سطح الطبق، وبوساطة جهاز قياس دقيق خاص . يمكن أخذ القراءات بعد 6 – 8 ساعات بشرط إعادة أخذ القراءات في اليوم التالي .

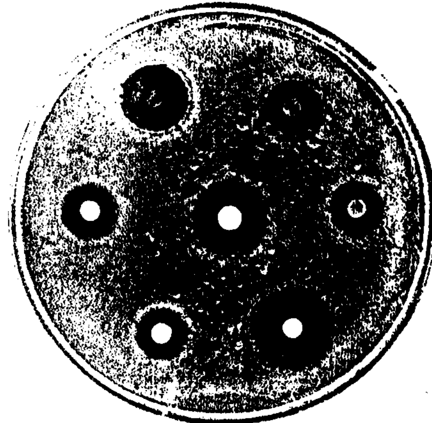
9. تقارن نتائج القياس بالجدول المعياري لتحديد المضاد القاتل للبكتيريا .



طبق موزع عليه أقراص مضادات حيوية



موزع آلي (automatic) لأقراص المضادات الحيو



حلقات قتل البكتيريا حول بعض الأقراص

جـ- طرق التحسس باستعمال اقل تركيز للمضاد الحيوي MIC

يصل إلى المختبر عدد كبير من العينات من أجل اتخاذ قرار حول المضادات الحيوية المؤثرة في شفاء المرض. ويتم إجراء الفحص بطريقة مؤداها إظهار حساسية البكتيريا المسببة للالتهاب لتركيز المضاد الحيوي في الأنسجة المصابة خلال تلقي المريض للعلاج بالطريقة والجرعة التي يصفها الطبيب. يختلف تركيز العلاج في الأنسجة من مريض إلى آخر، ومن وقت لآخر في المريض الواحد، لذلك ليس عملياً ولا صحيحاً أن نستخدم الطرق المخبرية لقياس الحد الأدنى للتركيز المثبط .Minimum inhibitory conc (M.I.C.) ، والحد الأدنى للتركيز القاتل .Minimum cidal conc (M.C.C.) للمضاد الحيوي ضد البكتيريا المعزولة وبدقة .

ويمكن أن نستخدم وببساطة الفحص الروتيني التقليدي لتمييز البكتيريا المعزولة، إما حساسة أو مقاومة للغايات العلاجية .

الغالبية العظمى من المختبرات الطبية في العالم بعامة وفي بريطانيا بخاصة تستخدم طريقة انتشار الأقراص Disk - diffusion test .

وفي هذه الطريقة يتم تثبيت أقراص من ورق الترشيح مغمورة بكمية محددة من المضادات الحيوية توضع فوق نمو البكتيريا المعزولة المنشورة على سطح طبق من الأوساط الصلبة الخاصة وكما مر سابقاً . وبعد فترة الحضانة ينتج حلقة خالية من النمو حول قرص المضاد بسبب انتشار المضاد في المنطقة المحيطة حول القرص . إن القرار الحرج الذي يؤخذ في المختبر من قبل الفني هو الصلاحية السريرية للفحص الذي أجري والذي يعتمد على تركيز المضاد الحيوي في القرص وقطر منع النمو حول القرص يعتمد عليها في تحديد الحساسية والمقاومة .

من ناحية عامة يعتبر الالتهاب في معظم أجزاء الجسم أن البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان MIC للمضاد لا يتجاوز 0.25 – 0.5 معدل تركيز المضاد الحيوي الذي يتعاطاه المريض في الدم، ويبلغ هذا المعدل (0.1 – 1.0 مايكروجرام / سم^3) .

يمكن حساب MIC للمضاد الحيوي لبكتيريا ما بوساطة قطر حلقة منع النمو حول المضادِ بالمقارنة مع جدول معياري، ويكون لهذا علاقة بتركيز المضاد الحيوي في القرص للبكتيريا المعيارية عند معرفة الـ MIC لذلك النوع من البكتيريا، ويمكن تلخيص ذلك بالمعادلة التالية :

MIC للبكتيريا تحت الفحص

= كمية المضاد الحيوي في القرص اللازمة لمنع نمو البكتيريا وإعطاء قطر حلقة معين ÷ كمية المضاد الحيوي في القرص اللازمة لمنع نمو البكتيريا المعيارية وإعطاء نفس قطر الحلقة × MIC للبكتيريا المعيارية

تستعمل معظم المختبرات الطبية الطريقة التجريبية لمعرفة قراءات المضادات الحساسة لها البكتيريا بمقارنة حلقة القتل للفحص مع حلقة القتل لبكتيريا معيارية معروفة بحساسيتها للعلاج بالجرعات العادية لعلاج التهاب المسالك البولية حيث لا يوجد غزو للأنسجة ، يمكن اعتبار البكتيريا حساسة لمضاد ما عندما يكون MIC عشرة أضعاف الـ MIC لالتهاب آخر . ويجب أخذ ذلك بعين الاعتبار عند إجراء الفحص لعينات البول .

يعتمد قطر حلقة منع النمو على الانتشار ، ويتأثر الانتشار بدرجة الـ PH والعمق ، والتمييه وتركيز الأجار في الوسط ونوع الغذاء الموجود في الوسط، ومعدل النمو وحجم وظروف الحضانة، وكمية النمو المنشورة على الطبق .

د– جدول القياس قطر حلقات النمو بمعيار Kirby-Bauer .

جدول قياس قطر حلقات تدمير النمو بمعيار Kirby - Bauer

ANTIMICROBIAL AGENT	DISC CONTENT	ZONE OF INIBITION (DI AMETER) IN mm		
		RESISTANT	INTERMEDIATE	SENSTTIVE
AMIKACIN/AMIKIN-(AN)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
AMOXICLLIN-(AML,AMX)	25 mcg	22 or less	23-30	31 or more
AMPICILLIN-(AMP)-For cocci	20 mcg	22 or less	23-30	31 or more
-For bacilli	20 mcg	12 or less	13-14	15 or more
AUGMENTIN-(AMC)-For Staph. &	30 mcg	19 or less	——	20 or more
-H. influenzae	——	——	——	——
AUGMENTIN -(AMC)-For Others	30 mcg	13 or less	14-17	18 or more
AZTREONAM/AZACTAM-(ATM)	30 mcg	15 or less	16-21	22 or more
BACTRACIN-(BO, B)	10 IU	08 or less	09-12	13 or more
CARBENICILLIN-(CAR-CB) For Pseudo	100 mcg	13 or less	14-16	17 or more
CEFACLOR-(CEC)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEFAZOLIN/CEFAMEZIN-(KZ)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEFIXIME/SUPRAX-(CFM)	5 mcg	15 or less	16-18	19 or more
CEFOPERAZONE-(CEP)	75 mcg	15 or less	16-20	21 or more
CEFOTAXIME/CLAFORAN-(CTX)	30 mcg	14 or less	15-22	23 or more
CEFOXITIN/MEFOXIN-(FOX)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEFTAZIDIME/FORTUM-(CAZ)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEFTIZOXIME/CEFIZOX-(ZOX)	30 mcg	14 or less	15-19	20 or more
CEFTRIAXONE/ROCEPHINE-(CRO)	30 mcg	13 or less	14-20	21 or more
CEFUROXIME/ZINACEF-(CXM)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEPHADRXILE/CEDROX-(CFR)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEPHALEXINE/KEFLEX-(CPX. CL)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CEPHRADINE/VELOCEF-(CH)	30 mcg	14 or less	15-17	18 or more
CHLORAMPHENICOL-(C)	30 mcg	12 or less	13-17	18 or more
CIPROFLOXACIN/CIPROFLOX-(CIP)	5 mcg	15 or less	16-20	21 or more
CLINDAMYCIN-(CNC, DA)	2 mcg	14 or less	15-16	17 or more
CLOXACILLIN-(CLX)	5 mcg	09 or less	10-13	14 or more
CO-TRIMOXAZOLE/BACTRIM-(SXT)	25 mcg	11 or less	12-16	17 or more
DOXYCYCLINE-(DOX)	30 mcg	14 or less	15-18	19 or more
ERYTHROMYCIN-(E)	15 mcg	13 or less	14-17	18 or more
GENTAMYCIN-(GN, GM)	10 mcg	12 or less	13-14	15 or more
IMIPENEM/TIENAM-(IPM)	10 mcg	13 or less	14-15	16 or more
LINCOMYCIN-(L)	2 mcg	09 or less	10-14	15 or more
METHICILLIN-(MET, DP)	5 mcg	09 or less	10-13	14 or more
MINOCYCLINE/MINOCIN-(MH)	30 mcg	14 or less	15-18	19 or more
NITROFURANTOIN-(FUR)	300 mcg	14 or less	15-16	17 or more
NORFLOXACIN/NOROXINE-(NOR)	5 mcg	15 or less	16-20	21 or more
NOVOBIOCIN	30 mcg	17 or less	18-21	22 or more
OFFLOXACIN/NOVECIN-(OFF)	5 mcg	15 or less	16-20	21 or more
PENCILLIN "G" -(P)- For cocci	10 IU	20 or less	21-28	29 or more
PIPRACILLIN/PIPRIL-(PRL)	100 mcg	14 or less	15-17	18 or more
STREPTOMYCIN-(S)	10 IU	11 or less	12-14	15 or more
TETRACYCLINE-(TE)	30 mcg	14 or less	15-18	19 or more
TOBRAMYCIN-(NN)	10 mcg	12 or less	13-14	15 or more
VANCOMYCIN-(Va)	30 mcg	09 or less	10-11	12 or more
TAZOCIN-(TZP) G-ve	100 - 110 mg	⊆ 17	18-20	≥ 21

الوحدة السادسة

البكتيريا الطبية

أ- البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام وتشمل :

1. Staphylococcus 2. Streptococcus 3. Pneumococcus

ب-البكتيريا الكروية السالبة لصبغة جرام ، وتشمل :

Neisseria

جـ- البكتيريا العصوية السالبة لصبغة جرام وتشمل :

1. Escherichia 2. Proteus 3. Klebsiella
4. Pseudomonas 5. Enterobacter 6. Providencia
7. Alkaligenes 8. Bacteroides 9. Citrobacter
10. Salmonella 11. Shigella 12. Vibrio
13. Haemophilus 14. Bordetella 15. Pasteurella
16. Brucella 17. Campylobacter

د- البكتيريا العصوية الموجبة لصبغة جرام وتشمل :

1. Corynebacterium 2. Listeria 3. Mycobacterium
4. Clostridium 5. Bacillus

هـ- البكتيريا اللولبية وتشمل :

1. Borrelia 2. Treponema 3. Leptospira

و- المايكوبلازما Mycoplasma

ي- الركتسيا والكلاميديا Rickettsia & Chlamydia

أ- البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام
Gram Positive Cocci Bacteria

المكورات العنقودية
Staphylococci

الشكل Morphology :

وهذه عبارة عن بكتيريا كروية ، Gm + ve ، لا تنتج أبواغاً ولا تحتوي على محفظة وتتميز بتجميعها في أشكال عنقودية سببها انقسام هذه الخلايا في مستويات مختلفة يتراوح حجم الخلايا ما بين 0.8 إلى 1.4 ميكرون .

يمكن لهذه البكتيريا العيش في أوساط غذائية متعددة ويمكنها النمو هوائياً وفي غياب الأوكسجين ، وان كانت تفضل النمو الهوائي . تتنوع ألوان المستعمرات الناتجة في أوساط غذائية صلبة من اللون البرتقالي إلى الأصفر إلى الأبيض .

الأنواع المرضية منها غالباً ما تحلل كرات الدم الحمراء وتخثر بلازما الدم . بعض هذه البكتيريا تشكل جزءاً مما يسمى بالساكن الطبيعي Normal flora بينما يسبب بعضها الآخر عدداً من الاضطرابات الجلدية ، والقروح والبثور وغيرها .

يمكن لهذه البكتيريا ان تترتب عند زراعتها في أوساط غذائية سائلة ، في أشكال ثنائية أو رباعية أو حتى أحادية وان بقي شكلها العنقودي هو المميز .

الصفات الزراعية .Cultural Char:

تنمو هذه البكتيريا في عدد من الأوساط الغذائية البكتيرية ودرجة الحرارة المثلى لها هي ٣٧ مئوية كانت افضل درجة لإعطاء المستعمرات الملونة هي درجة 20°م. لا تظهر الألوان عند نمو البكتيريا لا هوائياً . تعطي السلالات المختلفة . أنواعاً مختلفة من السموم المحللة للدم الـ Haemolysins .

تستطيع هذه البكتيريا استهلاك عدد من السكريات ببطء وتنتج حامض اللكتيك دون أن تعطي غازات . كما تمتاز بوجود تنوعات كبيرة ما بين السلالات من حيث النشاطات الكيميائية الأخرى . تقاوم هذه البكتيريا الجفاف والحرارة (50°م لمدة نصف ساعة)، كما أن من أهم مميزاتها قدرتها على النمو في أوساط بها نسبة عالية من الملح قد تصل إلى 15٪ وتمتلك بعض السلالات القدرة على إنتاج أنزيم Penicillinase الذي يحطم البنسلين مما يجعلها قادرة على مقاومة هذا المضاد الحيوي .

الصفات الكيميائية الحيوية Biochemical Char. ينظر الجدول رقم 2،1

التركيب الأنتيجيني Antigenic structure

تحتوي هذه المكورات على كلا النوعين من المواد الأنتيجينية ، البروتينات والسكريات العديدة التسكر Polysaccharides ، مما يجعل بالإمكان تجميع السلالات المختلفة إلى حد ما في مجموعات متقاربة على أسس تفاعلاتها المصلية. هناك مركبات أنتيجينية مميزة لأنواع معينة موجودة في جدران خلايا تلك الأنواع ، ويمكن استخلاصها وإنتاج الأجسام المضادة لها . ومن هذه يمكننا إجراء التفاعلات المصلية بين الأجسام المضادة المعروفة وتلك الأنتيجينات ، وبالتالي التعرف على الخلايا التي تحملها .

ملاحظة :

للتمييز بين (Staph) و (Micrococcus) زراعيا توضع في الحاضنة تحت الظروف الهوائية واللاهوائية فإذا نمت تحت الظرفين تكون البكتيريا هي Staph أما إذا نمت تحت الظروف الهوائية فقط فتكون Micrococcus .

كمايمكن استخدام الخاصية الأنتيجينية للتعرف على أنواع هذه البكتيريا عن طريق استخدامفيروسات بكتيرية Bacteriophages معينة . فهناك أنواع محددة من الفيروسات تتخصص في مهاجمة أنواع معينة من البكتيريا على أساس تركيب البكتيريا الأنتيجيني .

Symbol	Meaning and descriptive equivalent
+	85–100 % strains are positive (all, most, many, usually)
d	16–84 % strains positive (many, some)
–	0–15 % strains positive (no, none, few, some)
( )	Delayed reaction in test or delayed growth
(d)	Different reactions by different strains; positives are delayed
(w)	Reaction delayed and weak
w/–	Different reactions by different strains; positives are weak or growth is feeble
D	Different reactions given by lower taxa (genera, species, varieties)
	Not known

جدول تفسير الرموز

Symbol	Meaning
A	Acid produced in milk
B	Acid produced in milk; clotting is irregular
C	Acid clot in milk
c	Rennet (or rennet-like) clot
(C)	Slow formation of acid clot
E	Some strains produce a soft clot
F	Fermentative; fermentation
G	Gas produced
J	Generally positive in young cultures; inconstant in older cultures
M	Digestion of clot in milk
N	Reduction of indicator
NT	Not tested; not testable
O	Oxidative; oxidation
[O]	Under aerobic conditions
[Ø]	Under anaerobic conditions
R	Rod-shaped
r	Resistant (to antibiotic, etc.)
S	Sphere; coccus
s	Susceptible; sensitive to antibiotic, etc.
T	Spores terminal
U	Spores central
V	Spores subterminal; variable in position
X	Spores oval; ellipsoidal
(x)	Late and inconstantly positive (mutative)
Y	Spores round

Letters in bold type are serological designations
Superior italic letters are explained in footnotes to the individual table

جدول تفسير رموز إضافي

	1	2	3
Growth under anaerobic conditions	+	−	w
Catalase	+	+	w
Oxidase	−	d	−
Carbohydrate attack	F	O/-	F
VP	+	−	−
Nitrate reduced	+	d	−
Arginine hydrolysis	+	−	−
Phosphatase	+	−	.
G+C mole per cent	30–40	66–75	38–43
Lysozyme	r	s	.
Lysostaphin	s	r	.

1 **Staphylococcus**
2 **Micrococcus**
3 **Aerococcus**

r resistant
s sensitive
w weak reaction/growth

جدول رقم (1)

	1	2	3	4	5	6
Growth under anaerobic conditions	+	w	–	–	–	w
Oxidase	–	–	d	–[a]	–[a]	–
Carbohydrate breakdown [F/O/ –]	F	F	–/O[b]	O	O/–	F
Carbohydrates, acid from:						
glucose	+	+	–[b]	+	+	+
lactose	+	d	–	d	–	+
maltose	+	+	–	d	–	+
mannitol	+	d	–	d	–	d
mannitol (anaerobic)	+	–	–	–	–	.
sucrose	+	+	–	d	d	+
xylose	–	–	–	d	–	–
VP	+	d	–	–	–	–
Nitrate reduced	+	d	–	d	+	–
Gelatin liquefaction	+	d	d	d	–	–
Urease	+	d	d	+	d	–
Arginine hydrolysis	+	+	–	–	–	–
LV (egg-yolk reaction)	+	+	–	–	–	–
Pigment formation[c]	+/–	–/+	+	+	+	–
Phosphatase	+	d	–	–	–	.
Coagulase	+	–	–	–	–	–

1 **Staphylococcus aureus**; *S. pyogenes*; *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*
2 **Staphylococcus epidermidis**; *S. saprophyticus*; *S. albus*; *Micrococcus pyogenes* var. *albus*
3 **Micrococcus luteus**; *M. afermentans*; *M. lysodeikticus*; *Staphylococcus afermentans*
4 **Micrococcus varians**; *M. lactis*; *Staphylococcus lactis*
5 **Micrococcus roseus**; *Staphylococcus roseus*
6 **Aerococcus viridans**

[a] Result may vary with the method; see Steel (1962*b*).
[b] May be positive on ammonium salt sugars; see Section 6.2.2.
[c] Pigments usually gold, cream or yellow; *M. roseus* pigment is pink. – on the pigment line = white or grey.

جدول رقم (2)

السموم والأنزيمات Toxins & Enzymes

يمكن لهذه البكتيريا التسبب في إحداث المرض إما عن طريق تكاثرها وانتشارها داخل أنسجة الأنسان أو الحيوان أو عن طريق إنتاجها من المواد السامة أو الأنزيمات المحللة، ومن هذه المواد نذكر ما يلي :

1) Exotoxins أو سموم خارجية :

وهي عبارة عن مجموعة من المركبات غير الثابتة حرارياً، وتمتلك خواصاً قاتلة لعدد من الحيوانات المخبرية إذا أعطيت لها بطريق الحقن . وتضم هذه السموم عموماً عدداً من المركبات الكيميائية القادرة على تحليل كريات الدم الحمراء **Haemolysins** والتي نذكر منها **α - haemolysin** (الالفا) القادر على تحليل دم الأرانب ، والـ **β - haemolysin** البيتا الذي يحلل دم الأغنام ولا يؤثر في دم الأرانب .

يمكن إبطال مفعول هذه السموم بمعاملتها بمادة الفورمالين التي تفقدها تأثيرها السام وتحولها إلى **Toxoid** غير فعال يمكن استخدامه عندها لإنتاج المناعة عند الإنسان .

2. Leucocidin :

وهو مركب كيميائي يملك القدرة على تحطيم كريات الدم البيضاء لعديد من الحيوانات . وتمتاز هذه المادة بكونها حساسة للحرارة وهي من السموم الخارجية . وتعتبر هذه المادة أنتيجينية حافزه لإنتاج الأجسام المضادة .

3. Coagulase :

أنزيم تفرزه سلالات معينة من نوع *S. aureus* ، وخاصة السلالات المرضية ، وهو أنزيم يعمل على تجلط بلازما الدم .

4. Enterotoxins :

وهذه عبارة عن مجموعة من المواد البروتينية تنتجها أنواع وسلالات محددة من هذه البكتيريا خاصة إذا ما زرعت تحت أجواء بها نسبة عالية من CO_2 وفي وسط غذائي شبه صلب .

تسبب هذه السموم ما يعرف بالتسمم الغذائي إذا ما تناول إنسان طعاماً يحتوي على هذه السموم ، وتقدر الكمية الكافية من هذه السموم لإنتاج التسمم بمقدار 1 ملجرام . وتتلخص أعراض التسمم في القيء وألم في المعدة وإسهال شديد . وعادة ما يشفى المصاب خلال 24 ساعة ونادراً ما تحدث وفاة نتيجة لهذا التسمم .

Staphylococcal Pathogenicity ، مرضية المكورات العنقودية :

تعتمد قدرة هذه البكتيريا في إنتاج المرض على إنتاج العوامل والمواد السابقة إلى جانب قدرة البكتيريا على غزو أجسام العوائل والتكاثر داخل تلك الأجسام ، يعتبر نوع البكتيريا *S. aureus* هو النوع المرضي من هذه البكتيريا ، وبالتالي فإن معظم الدراسات الموجودة حول هذه البكتيريا تعتمد أساساً على ذلك النوع وخاصة في المجالات الطبية . ولكن يجب أن نتذكر هنا أن هناك أدلة كثيرة حالياً توضح علاقة أنواع أخرى من الـ .Staph غير الـ *S. aureus* بعدد من الأمراض والإصابات المرضية ، وخاصة بعض إصابات الجهاز البولي ، وبعض التهابات الجهاز الدوري .

Staphylococcal infections ، الإصابات الناتجة عن المكورات العنقودية :

يعتبر الأنف هو الموقع الطبيعي لهذه البكتيريا ، وتشير الإحصائيات إلى أن 50٪ من البشر يحملون بكتيريا *S. aureus* في الأنف ومواقع أخرى من الجسم . ويمكن لهذه البكتيريا التسبب في عدد كبير من الإصابات السطحية في الجلد كالبثور والتقرحات بالإضافة إلى مضاعفتها لالتهاب الجروح والحروق ، وتسبب التهاب السحايا والمسالك البولية ، وتعفن الدم والتهاب الأذن والعين بنسبة أقل .

كما أن الـ *S. aureus* تسبب حوالي 90٪ من حالات الإصابة بمرض Osteomyelitis (التهاب العظام) والذي يحدث غالباً في الأطفال ، ويمكن أن ينتج من إصابة سطحية أو من كسر في العظم .

تسبب بكتيريا *S. aureus* نوعاً خاصاً غير شائع من أنواع مرض التهاب الرئة الذي قد ينتج كمضادات للأنفلونزا أو لأمراض أخرى في الجهاز التنفسي . ومن المشاكل التي تسببها بكتيريا *S. aureus* أيضاً ما سبق ومر ذكره في موضوع التسمم الغذائي ، ولكن يجب ان نتذكر هنا أن هذه الحالة لا تعتبر إصابة جرثومية Infection ، وإنما هي حالة تسمم .

ومن الأمور التي يجدر ذكرها في مجال إصابات المكورات العنقودية هي حالات الإصابة في المستشفيات، حيث كثرت في السنوات الأخيرة حالات الإصابة بالمكورات العنقودية داخل المستشفيات ، مما قاد إلى ظهور تعبير خاص يصف هذه الظاهرة وهو يسمى Hospital infections حيث تصيب هذه البكتيريا الجروح المعقمة أو النظيفة أثناء وبعد العمليات الجراحية . وغالباً ما تكون الإصابات ناتجة عن سلالات مقاومة للمضادات الحيوية مما يزيد الحالة سوءاً وصعوبة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

هناك خطوات وطرق عامة تتبع عند فحص عينات مخبرية بغرض التعرف على البكتيريا المسببة للمرض المطلوب دراسته. وهناك ضمن هذه الدراسات طرق ووسائل تتخصص في كل نوع من أنواع البكتيريا المعروفة . ويمكننا فيما يلي وصف الطرق المتبعة في فحص عينات مخبرية بغرض التعرف على وعزل بكتيريا الـ Staph ، وتقسم الطرق هنا بشكل عام إلى ثلاثة أقسام رئيسية : الأول منها يتعلق بزراعة البكتيريا من العينات الأولى ، والثاني يتضمن دراسة وفحص تلك المزارع الناتجة ، بينما يتعلق القسم الثالث بالتحقق من

قدرة البكتيريا على إحداث المرض أو التحقق من وجود الخواص البكتيرية المرتبطة بمرضية تلك البكتيريا .

ولنبدأ بالقسم الأول

الزراعة الأولية Primary Cultures

تقسم العينات التي تستعمل في البحث عن المكورات العنقودية **Staph** إلى أنواع يعامل كل نوع منها بطريقة معينة وعلى هذا الأساس فإن هناك خطوات تتبع في :

1. جمع العينات ما عدا عينات الدم والبراز :

وهنا يستعمل وسط غذائي هو الـ **Blood agar (BA)** ، أو أنابيب اختبار زجاجية محتوية على أوساط غذائية سائلة . وعند استعمال الوسط الغذائي (BA) يجب أن تتم عملية التخطيط بعناية للحصول على مستعمرات منفصلة ، وبالتالي مزارع نقية ، ثم تجرى طريقة جرام لصبغ شرائح من العينات للتأكد من وجود خلايا تمثل المكورات العنقودية **Staph** . وعادة ما يحتاج البحث إلى إعادة زراعة العينة على أوساط متخصصة أو أختيارية إذا ما تبين من الفحص المجهري أن هناك بكتيريا غير المكورات العنقودية **Staph** في العينة . وأكثر الأوساط الغذائية استعمالاً في هذه الحالات هو وسط **Mannitol salt agar (M.S.A)** وهو وسط يحوي نسبة عالية من الملح الذي يمنع نمو العديد من البكتيريا الأخرى كما تحوي سكر المانيتول الذي يتحطم بفعل نشاط ***S. aureus*** ويعطي حامضاً مما يغير قيمة الـ (PH) للوسط ، وهذا يؤدي إلى إعطاء لون مميز هو الأصفر في هذا الوسط لاحتواءه على كاشف معين ، ويكون لون الوسط الأصلي هو الأحمر . وبالتالي تظهر مستعمرات الـ***S. aureus*** محاطة بمنطقة صفراء .

2. عينات الدم :

يستعمل في فحص هذه العينات أنابيب زجاجية تحوي الأوساط الغذائية المناسبة لزراعة البكتيريا مع ضرورة احتوائها على مواد مانعة للتجلط **Anticoagulants** .

يلي ذلك قسم فحص المزارع **Examination of Primary cultures**

ففي حالة الـ BA plates تظهر المستعمرات على شكل دوائر يتراوح قطرها من 5 إلى 7.5 ملم ، وهي رطبة الملمس ناعمة مرتفعة في الوسط كالقبة .

: MSA plates

يكون لون المستعمرات بيضاء إلى مصفرة محاطة بمنطقة صفراء شفافة . أما في حالات الزراعة في الأوساط السائلة Broth culture فيصعب تمييز البكتيريا النامية، ولذلك يجب نقل عينات من تلك الأنابيب وزرعها على الأوساط الصلبة الأخرى.

الطريقة السريعة لتشخيص أكثر أنواع الـ.Staph أهمية من الناحية السريرية

أول ما نشرت في مجلة العلوم الطبية المخبرية في كانون الثاني عام 1991 . تعتبر هذه الطريقة سريعة ودقيقة وتستغرق ساعتين لتشخيص الأنواع الثلاثة المهمة سريرياً من المكورات العنقودية وهي *S. aureus* و *S. saprophyticus* و *S. epidermidis* . وتشمل الطريق شريطاً بلاستيكياً محتوياً على ستة أقمعة cupules . يحتوي القمع الأول على Aurease Test الخاص بـ *S. aureus* . يتفاعل هذا الأنزيم مع prothrombin ليشكل مركباً له تأثير حال للبروتين الموجود في اللقيم Substrate المزود بالفحص ويقود هذا التفاعل إلى تحرير مادة Fluorogen التي تعطي لون الفلوريس تحت الأشعة فوق البنفسجية على طول موجة 365 نانوميتراً .

يستخدم القمع الثاني والثالث للكشف عن Alk. phosphatase و β - galactosidase على التوالي . تستخدم الأقمعة الثلاثة الباقية لتحضير المعلق البكتيري (s) ، و Catalase test و Fluorescent control (Cupule o) و MC Farland No.4 جاهزة لضبط العكورة Turbidity control (C) .

الخطوات **Procedure :**

1. يضاف 250 μl من الماء المعقم إلى القمع C و S ويمزج عدد من المستعمرات في القمع S حتى تتساوى عكورتها مع العكورة المعيارية C .
2. ينقل 50 μL من المعلق إلى القمع 0،و1، 2 ثم 3 ويغطى .
3. يوضع الشريط في الحاضنة 35 – 37°م لمدة ساعتين .
4. يوضع الشريط تحت الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة 365 نانوميتراً للقراءة .

النتيجة **Result :**

1. يحكم على فحص **Aurease** بأنه إيجابي عندما يتجاوز لونه لون الفلورسين الموجود في الضابط **Control** وتشخص بأنها ***S. aureus***
2. تكون **AIK . phosphatase** إيجابية عندما تعطي لوناً أصفر وتكون سلبية عندما لا تظهر لوناً .
3. يقرأ فحص **galactosidase - β** إذا كانت نتيجة **Aurease** سلبية ويتم ذلك بإضافة قطرة واحدة من 5.٪ من **Fast violet B** في **2- methoxy - ethanol** وتقرأ النتيجة بعد 2–3 دقائق . وتعتبر النتيجة إيجابية إذا ظهر اللون الوردي-الأحمر وعدم ظهور اللون يدل على النتيجة السلبية .
4. أضيف الـ **Catalase** كفحص تأكيدي ويتم الكشف عنه بإضافة 3٪ **H2o2** إلى القمع 5 ، إن ظهور فقاعات هواء مؤشر على النتيجة الإيجابية ، وهذا دليل على أن البكتيريا **.Staph** .

وتقارن النتائج بالجدول التالي :

Cupule	Test	*S. aureus*	*S.epid*	*S. sapr.*	*S. intermedius* or *S. xylosus*
0	Fluorescent control	-	-	-	-
1	Aurease	+	-	-	-
2	AIK. Phosphatase	+ or -	+	-	+
3	β-galacosidase	*	-	+	+

* تقرأ فقط إذا ظهرت نتيجة Aurease سلبية .

يتبع ذلك مرحلة التحقق من وجود الصفات والميزات المعروفة بارتباطها بقدر المكورات العنقودية .Stph على إحداث المرض ، ومن هذه التجارب ما يلي :

1. Coagulase - production :

وهذه أكثر التجارب المستعملة شهرة وأهمية ، وكثيراً ما تكون هي القرار الفاصل بين وجود مكورات عنقودية .Staph مرضية أو غير مرضية ، إذ يعتبر إنتاج الأنزيم دليل على وجود بكتيريا *S. aureus* من النوع المرضي .

وهناك طريقتان لإجراء هذه التجربة ، إما باستعمال شريحة زجاجية ، وتسمى الطريقة Slide test أو باستعمال أنبوب اختبار ، وتسمى Tube - test ، والفكرة في الطريقتين واحدة، وهي محاولة إجراء تفاعل بين البكتيريا وبلازما الدم ، فإذا ما حدث تخثر في البلازما كان هذا دليلاً على وجود الأنزيم ، وإلا اعتبرت النتيجة سلبية .

أ- طريقة الأنبوب Tube - test :

يستعمل هنا أنابيب اختبار صغيرة يوضع فيها حوالي 0.5 مل من محلول البلازما ، ثم يضاف إليه قطرات (حوالي 0.3 مل) من معلق البكتيريا الحديث النمو (لا يزيد عمره عن 24 ساعة) والمزروع في وسط سائل ، ثم يمزج المحلولان جيداً ويحفظ أنبوب الاختبار في حمام مائي على درجة 37 م لمدة 7 ساعات على أن تفحص الأنابيب كل ساعة ، وتسجل

النتيجة على أساس ظهور التجلط في البلازما . وهناك أربعة درجات من التجلط حيث تعتبر (+4) و (+3) هي الدرجات التي تدل على النتائج الإيجابية ، بينما لا ينظر إلى +2 و +1 على أنها موجبة لضعف درجة التجلط الناتجة .

ب- Slide - test طريقة الشريحة :

يستعمل هنا شريحة زجاجية عادية توضع على أحد طرفيها قطرة بلازما ويضاف إليها قطرة من المعلق البكتيريا ، بينما يوضع على الطرف الآخر قطرة محلول ملحي مع بكتيريا . تمزج البكتيريا بالبلازما وتفحص للتحقق من وجود التخثر الذي يظهر على شكل رواسب بيضاء وتستخدم القطرة الأخرى كضابط سلبي Negative control .

2. Pigmentation ، تلون المستعمرات :

كانت هذه الخاصية من أول المميزات المستعملة للتمييز بين .Staph المرضية وغير المرضية ، حيث كانت المستعمرات الصفراء أو برتقالية اللون هي البكتيريا المرضية ، بينما الألوان البيضاء غير مرضية . ولكن هذه الخاصية أصبحت غير ذات أهمية حالياً لضعف ارتباطها بمرضية البكتيريا ولعدم ثبات تلك الخاصية .

3. Nuclease production (Dnase) :

تنتج سلالات معينة من Staph أنزيماً خاصاً يملك القدرة على التأثير في تركيب الحامض النووي DNA ويسمى Dnase ، ويعتبر إنتاج هذا الأنزيم من مزايا الأنواع المرضية من البكتيريا . وهناك نوعان من هذا الأنزيم ، الأول Dnase غير ثابت حرارياً أي يتحطم بالتسخين ، والثاني ثابت حرارياً ويرمز له بالحروف Tnase ويعتبر إنتاج الـ Tnase من أهم مزايا البكتيريا المرضية ، وربما فاق في أهميته أنزيم الـ Coagulase في تحديد بكتيريا *S. aureus* .

ويمكن الكشف عن هذين الأنزيمين باستعمال فكرة أساسية وهي أن الحامض النووي DNA يمكن أن يتحد بصبغة Toluidine blue الزرقاء ويتلون باللون الأزرق ، وإذا ما تفاعل هذا المخلوط بأنزيم Dnase فإن الأنزيم يحطم الحامض النووي إلى أجزاء صغيرة ، مما يغير اللون الأزرق إلى لون وردي ، وبالتالي يمكن استخدام ظهور هذا اللون كدليل على وجود الأنزيم .

وتجرى التجربة بتحضير مخلوط الحامض النووي مع الصبغة الزرقاء في وسط مائي به آجار مما يعطيه صفة الصلابة . يصب هذا المحلول إما في أطباق بترى أو على شرائح زجاجية ، ويترك ليبرد ويتصلب . ثم تحدث فيه ثقوب صغيرة نضع فيها من معلق البكتيريا المراد فحصه ويترك 1-4 ساعات ، ثم يفحص للتأكد من ظهور اللون الوردي حول تلك الفتحات أو الثغور . وهذا يدل على وجود أنزيم Dnase .

أما أنزيم Tnase فيكشف عنه بنفس الطريقة ، ولكن بعد أن يسخن معلق البكتيريا لمدة 15 دقيقة على درجة الغليان ، ثم تضاف قطرات منها إلى الثغور في مخلوط الحامض النووي والصبغة الزرقاء والآجار .

العلاج Treatment

معروف أن بكتيريا Staph فيكتشف حساسة للعديد من المضادات الحيوية وإن كان هناك سلالات تملك مقاومة طبيعية للبنسلين بالإضافة إلى أنها كثيراً ما تنتج سلالات مقاومة للمضادات الحيوية نتيجة لسوء استعمال هذه المضادات .

وعلى أي حال يبقى استعمال المضادات الحيوية هو أكثر الطرق المستعملة لعلاج إصابات هذه البكتيريا .

وقد نشرت مجلة العلوم الطبية المخبرية Med. Lab. Science في حزيران عام 1987 بحثاً مفاده أن معظم البكتيريا المعزولة من عينات مرضية وتابعة للنوع ***S. aureus*** تكون مقاومة للبنسلين بسبب إنتاجها لأنزيم **β - Lactamase** وقد حلت المشكلة بإدخال الـ **Methicillin** لعلاج حالات الإصابة بأنواع الـ **.Staph** المقاومة للبنسلين . وقد وجد حديثاً أن هناك سلالات من الـ **.Staph** قد أظهرت مقاومة للبنسلين مع أنها غير منتجة للـ **β-Lactamase** وسميت بـ **β -Lactam - antibiotic- resistant** **.Staph** .

وقد وجد بأن علاج الإصابة بـ *S. aureus* الحساسة للـ **Methicillin** قد فشل في بعض الحالات وقد فسر ذلك بسبب كثرة إنتاج البكتيريا للـ **β - Lactamase** أكثر من مقاومتها للـ **Methicillin** . وقد وجد كذلك بأن استخدام **Flucloxacillin** من قبل المصابين بالسلالات المقاومة للـ **Methicillin** وغير المنتجة للـ **β - Lactamase** قد أعطى نتائج مرضية . جميع المكورات العنقودية غير المنتجة لأنزيم **Coagulase** مقاومة لـ **0.04** وحدة من **Bacitracin** بينما تظهر الـ **Micrococci** والـ **Stomatococci** حساسية له .

تصنيف .Staph

هناك شبه اتفاق عام على تقسيم هذه البكتيريا إلى ثلاثة أنواع هي :

1. ***Staphylococcus aureus***
2. ***Staphylococcus epidermidis***
3. ***Staphylococcus saprophyticus***

ويتم هذا التقسيم على أساس تفاعلات كيميائية معينة ، وعلى أساس التركيب الكيميائي لجدران خلايا هذه الأنواع . وأهم التجارب الكيميائية المميزة إنتاج الـ Coagulase في النوع الأول ، وعدم إنتاجه في النوعين الآخرين .

وعادة يعتبر النوع الأول هو المسبب للأمراض ، بينما النوعان الآخران غير مرضيين ، ولكن الدراسات الحديثة أثبتت ارتباط خلايا من تلك الأنواع بحالات مرضية متعددة .

ولا يعتبر هذا التقسيم نهائياً إذ أن هناك محاولات واقتراحات كثيرة لتقسيم المكورات العنقودية أكثر من ذلك ، ولا تزال الدراسات مستمرة في هذا المجال .



المكورات العنقودية

المكورات السبحية STREPTOCOCCI

يتصف أعضاء هذا الجنس بإعطائه نتيجة سلبية لفحص Catalase وتميل في الظهور على شكل سلاسل إذا زرعت في أوساط سائلة .

وجدت أجناس genera أخرى على علاقة بهذا الجنس وتسبب إصابات في الإنسان مثل Leuconostoc حيث عزلت من حالات تعفن الدم والتهاب سحايا وعزل النوع *Lactococcus graviae* (Lancefield groupN) وأنواع من Pediococcus من حالات تعفن الدم (Septicemia).

تشبه الـ Aerococcus والـ Gemella المكورات السبحية .Strep في المظهر العام للمستعمرات وفي صبغة جرام من زراعة في وسط سائل وتظهران ترتيباً على شكل تجمعات أو رباعي ولكن ليس على شكل سلاسل .

يعتبر الجنس Gemella ساكناً طبيعياً في الجزء العلوي من الجهاز التنفسي ويسبب التهابات في غشاء القلب والجروح والتقرحات .

تعتبر الأجناس Leuconostoc و Pediococcuns مقاومة للمضاد الحيوي Vancomycin بينما تظهر الأجناس Streptococci و Aerococci و Gemella و Lactococci ومعظم Enterococci حساسية للمضاد الحيوي Vancomycin

التصنيف :

تصف هذه البكتيريا بالاعتماد على أساس تحليلها للخلايا الحمراء (haemolysis) إلى ثلاثة أنواع :

1. محللة للدم كاملاً β - hemolytic : وهذه تظهر حلقة واضحة من تحليل الخلايا الحمراء حول مستعمرة البكتيريا حيث يتم فقدان اللون الأحمر ، وتسمى البكتيريا التي تظهر هذه الصفة بـ *Strep. hemolyticus* أو *Strep. pyogenes*

2. محللة للدم جزئياً α - hemolytic: وهذه تظهر صبغة مخضرة مع حلقة ضيقة من التحلل للخلايا الحمراء أي أن فقدان اللون الأحمر لا يكون كاملاً ، وتسمى البكتيريا التي تظهر هذه الصفة بـ *Strep. viridans* .

3. غير المحللة للدم γ - hemolytic: وهذه لا تظهر أي نوع من التحلل حيث يبقى اللون الأحمر هو الظاهر . وتسمى البكتيريا التي تظهر هذه الصفة بـ *Strep. fecalis* . لقد وجد بأن بعض السلالات منها تعطي تحللاً كاملاً من نوع β (بيتا) .

ولكي نفرق بين هذه الأنواع الثلاثة لا بد من زراعة هذه البكتيريا على الوسط Blood agar . وهناك أسس أخرى لتصنيف هذه البكتيريا منها التفاعلات المصلية ، وهذا يعتمد على تركيبها الأنتجيني ، وكذلك على الأسس والمميزات الفسيولوجية . ولكن الأساس الأول في التصنيف وهو النشاط التحللي للدم هو أهم أساس لتصنيفها وأكثرها شيوعاً واستعمالاً .

الشكل Morphology

تظهر هذه البكتيريا على أشكال دائرية أو بيضاوية تترتب في أزواج أو على شكل سلاسل مختلفة الطول ، غير متحركة (Non - motile) ، غير منتجة للأبواغ تظهر أحياناً محفظة Capsulated وتأخذ الصبغة البنفسجية في طريقة صبغ جرام أي أنها gram + ve .



الصفات الزراعية Cultural characteristics

هوائية ولاهوائية اختيارية (Aerobe and facultative anaerobe) . تنمو الـ *Strep. fecalis* بغزارة على أوساط زراعية بسيطة ، وتوجد في أمعاء الإنسان بشكل طبيعي ، ولذلك يمكن عزلها من البراز .

تحتاج الـ *Strep. pyogenes* إلى أوساط غنية مثل Blood agar . مدى درجة الحرارة من 20–42 درجة مئوية ، والمثلى (Optimum) هي 37° مئوية . ويفضل حضنها بوجود 5–10٪ CO_2 لتنشيط النمو أكثر من الظروف الهوائية .

تظهر السلالات المضمرة (Virulent strains) من البكتيريا Stroptococci تحللاً كاملاً للدم على الوسط B.A. (β - hemolysis) وتظهر المميزات التالية للمستعمرات : دائرية ، شبه شفافة ، أقراص محدبة قليلاً ومنفردة وصغيرة الحجم . ويمكن حفز التحلل بطعن الـ Wire loop الحامل للبكتيريا عدة مرات في الوسط B.A. حيث تنمو البكتيريا في خط الطعن وتنتج سماً hemolysin حساساً للأوكسجين تحت السطحي الموجود في خط العطن يسمى Streptolysin - o. تظهر الـ Aerococcus مستعمرات رمادية إلى بيضاء دائرية محدبة الشكل . تعطي جميع أنواع & Leuconostocs Streptococcus و Lactococci نتائج سلبية مع فحص الـ Catalase . وأحياناً تعطي أنواعاً من Enterococci و Pediococcus و Aeaococcus تفاعلاً ضعيفاً جداً مع فحص الـ Catalase . تنمو Aerococcus و Gemella و Pediococcus في الوسط السائل Thioglycolate وتظهر خلاياها تحت المجهر على شكل كروي مرتبة على شكل مربعات و أزواج وربما منفردة ولكن ليس على شكل سلاسل .

الصفات الكيمائية الحيوية Biochemical Characteristics :

تتصف بكتيريا Streptococci ككل بأنها لا تظهر صفات مميزة ، وهي تخمر كثير من السكريات ، وتنتج حامض ، ولكن من دون غاز مثل اللاكتوز والسكروز والمنيتول Mannitol وغيرها .

لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 3، 4، 5، 6.

– تشخيص المكورات السبحية المحللة للدم كلياً (β - hemolytic Strep.) :

يتصف تحلل الدم من النوع بيتا β بتكسر كامل للخلايا الحمراء كما يظهر بوضوح تام عند اختبار الوسط تحت المجهر .

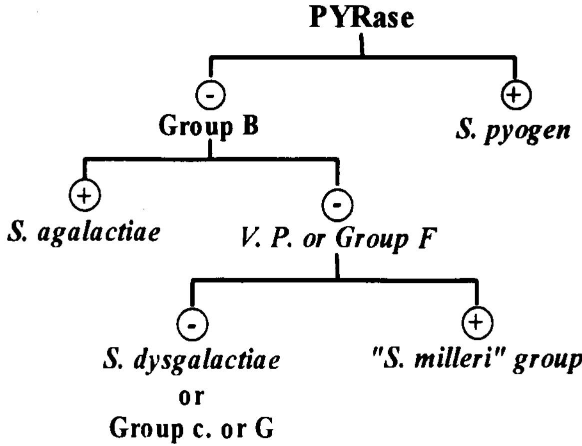
من النادر جداً أن تكون المستعمرات الكبيرة المحللة للدم كاملاً من النوع *Enterococcus fecalis* أو *E. durans* أن تكون من المجموعة D ولكن على الأغلب أن تكون من المجموعة A أو B أو C أو G . تحاط مستعمرات البكتيريا *Strep. pyogen* بحلقة واسعة من تحلل الدم وتصنف من المجموعة A وتعطي نتيجة إيجابية مع فحص PYR الموضح في الوحدة التاسعة صفحة 325 . وتشاركها في هذه النتيجة الأنواع Entercoccus spp و *L. garviae* .

تتميز الـ Entercoccus المحللة للدم من نوع β عن *Strep. pyogen* بزيادة انتشار حلقة التحلل حتى تصل إلى تحت المستعمرة وبكبر حجم المستعمرة أكثر من *Strep. pyogen* .

تتصف المجموعة B من المكورات السبحية *S. agalactiae* بإعطائها مستعمرات أكبر حجماً شفافة إلى معتمة بنسبة أكبر ، ولونها أبيض رمادي ، ناعمة ومحاطة بحلقة أصغر من التحلل الكامل β- hemolysis . تشبه هذه البكتيريا أنواع الـ Listeria حيث تعطي نتيجة إيجابية مع Catalase . من الأرجح أن المستعمرات الصغيرة جداً من المكورات السبحية المحللة للدم بشكل كامل أن تكون *Strep. milleri* حيث تعطي نتيجة إيجابية مع فحص V.P. وسلبية مع فحص PYR .

يمكن التحقق من المجموعة C و G من β- hemolytic strep. بالفحوصات المصلية والكيميائية الحيوية.

يمكن تلخيص خطوات ذلك بما يلي :



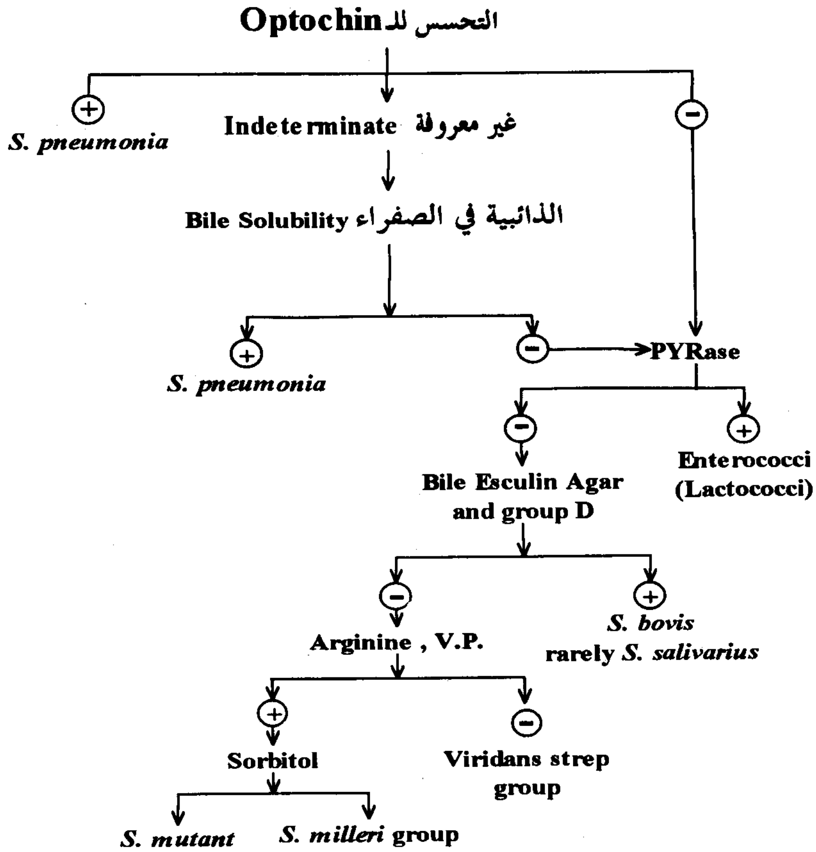
- تشخيص المكورات السبحية المحللة للدم جزئياً (α - hemloytic Strep) :

تظهر هذه البكتيريا حساسية للمضاد الحيوي Vancomycin .

تتميز صفات مستعمرات *Strep. pneumonia* كما هو مذكـور ص   وعند الاشتباه بهذه البكتيريا يجب إجراء فحص bile solubility (الذائبية في الصفراء) أو الحساسية لـ Optochin .

في الوقت الذي يتم فيه التأكد من أن البكتيريا ليست *S. pneumonia* فإنها تعامل على أنها Enterococcus أو *Strep. viridans* .

فإذا أظهرت تحسساً للـ   Vancomycin ولم تظهر تحللاً للدم (γ - hemolysis) فتعتبر في العادة Enterococci اوStrep Viridans . تصنف البكتيريا غير المحللة للدم والمحللة جزئياً على أنها Enterococci باستخدام فحص PYR . والمخطط التالي يوضح ذلك .



الإصابة Pathogenicity :

هناك عدة سموم تفرزها هذه البكتيريا منها O-streptolysin و Fibrinolysin الذي يحلل الـ Fibrin وكذلك الـ Hyaluronidase الذي يحلل Hyaluronic acid الذي يعمل كمادة لاصقة بين الأنسجة ، وكذلك سم Erythrogenic و Streptokinase و Dnase وأنزيمات أخرى .

وهذه السموم والأنزيمات تسبب الإصابة بأمراض مختلفة ويعتمد نوع المرض على نوع السم أو الأنزيم الذي تفرزه هذه البكتيريا ، فمثلاً سم الـ Erythrogenic عندما تفرزه البكتيريا يسبب نقصاً في مناعة العائل وتستقر الجرثومة في الجزء العلوي من الجهاز التنفسي، وعلى الأغلب في اللوزتين وتسبب التهاباً فيها حيث يسمى Tonsilitis . وتسبب الإصابة بالحمى القرمزية Scarlet fever .

ويمكن حدوث حالة الروماتيزم الحاد والتهاب النيفرون بسبب إفرازات أخرى منها مثلاً Streptolysin-O حيث يسبب مـرض الرومـاتيزم الحـاد Acute Rheumatism ويمكن حدوث التهاب في أي موقع تصل إليه البكتيريا ، منها التهاب الجروح ، والحـروق ، والتهاب الرئة ، والمسالك البولية ، والتهاب الأغشية المبطنـة للقلـب ، والتهـاب النفـاس ، والتهاب العظام وغيرها .

التركيب الأنتجيني Antigenic structure :

1. خاص من البروتين يسمى Specific protein "M"
2. نوع غير خاص من البروتين النووي Non-specific nucleoprotein "P"
3. مجموعة خاصة من الكربوهيدرات Agroup specific carbohydrate "C"

هناك عامل أنتيجيني قوي يسمى (T) ، ولكن ليس له علاقة بأحداث الإصابـة، في بعض الأحيان يظهر تفاعل التخثر Agglutination على الشريحة عند استعمال معلق مـن بكتيريا Streptococci .

	1	2	3	4	5	6
Motility	–	–	D	–	–	–
Catalase (in presence of boiled blood)	–	–	d	–	–	–
Haemolysis	β	α	$\alpha/\beta/-$	α	–	(β)
Growth at 45 °C	–	D	+	–	+	–
Survives 60 °C for 30 min	–	–	+	+	–	–
Growth at pH 9.6	–	–	D	+	–	–
Growth in 40 % bile	D	D	+	+	.	–
Arabinose (acid)	–	–	D	d	+	d
Glycerol (acid)	D	–	D	+	–	.

1 **Streptococcus** (β-haemolytic subgroup) see Table 6.3*b*
2 **Streptococcus** (α-haemolytic subgroup) see Table 6.3*b*
3 **Streptococcus** (group D; enterococcus) see Table 6.3*c*
4 **Aerococcus** see Tables 6.2*a*, *b*; 6.3*c*
5 **Pediococcus** see Table 6.3*c*
6 **Gemella** see Tables 6.3*c*; 7.3

جدول رقم (3)

ولقد اكتشف العالم **Lancefild** مجموعة كثيرة الـ **Hemolytic strep.** مثل مجموعة **A, B, C,D,E, F, G, H, K** وأكثر هذه المجموعات ضرراً للإنسان هي مجموعة **(A)** ولكن بعض المجموعات الأخرى يمكن أن تكون سبباً لظهور بعض الأعراض والإصابات السريرية .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Haemolysis	β	α/β	α	β	β	β	.	(β)	α	–	α/–	α	α	α/–
Growth at 45 °C	–	–	–	–	–	–	.	–	–	+	–	d	d	–
CO_2 requirement	–	–	–	–	–	–	.	+[a]	–	–	–	–	–	+
Growth in 6.5 % NaCl	–	–	–	–	–	–	.	–	–	–	–	–	–	–[b]
Growth on 10 % bile	–	+	–	+	d	–	.	.	–	+	d	d	–	+
Growth on 40 % bile	–	+	–	–	–	–	.	–	–	d	d	d	–	d
Growth in 1/4000 tellurite	–	d	.	.	.	.	.	.	.	d	d	d	d	.
Carbohydrates; acid from:														
glycerol	–	d(O)	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
lactose	+	d	d	d	–	+	–	+	+	+	+	+	d	+
maltose	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+
raffinose	–	–	–	–	–	–	–	d[c]	d	d	–	d	d	d
salicin	+	+	d	d	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+
sorbitol	–	–	d	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	+
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+[d]	+	+[e]	+	+[e]
trehalose	+	+	+	+	–	–	+	+	d	+	+	d	d	+
VP	.	–	.	.	.	.	.	.	–	d[f]	+	–	d	+
Aesculin hydrolysis	–	–	–	d	–	+	.	.	–	+	d	d	–	d
Litmus milk	A	AC	B	B	–	A	c/–	AB	AC	AC	NAC	AC	NAC	.
Gelatin liquefaction	–	–	–	–	–	–	.	–	–	–	–	–	–	.
Arginine hydrolysis	+	+	+	+	+	+	.	+	–	–	+	+	–	–
Hippurate hydrolysis	–	+	d	–	–	–	.	–	–	–	–	–	–	–
CAMP test	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
EHC (or bile) solubility	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
Polysaccharide antigens[g]	A	B	C	C	C	C	E	FG1	–/O	K[h] [Ott]	AC FG [Ott]	HK	OK M	.

1 **Streptococcus pyogenes**; *S. haemolyticus*
2 **Streptococcus agalactiae**
3 **Streptococcus dysgalactiae**
4 **Streptococcus equisimilis**
5 **Streptococcus equi**
6 **Streptococcus zooepidemicus**
7 Group E streptococci from swine (Deibel *et al.* 1964)
8 **Streptococcus anginosus**; 'minute haemolytic streptococci'
9 **Streptococcus pneumoniae**; *Diplococcus pneumoniae*; pneumococcus
10 **Streptococcus salivarius**; *S. hominis*; *S. cardioarthritidis*
11 **Streptococcus milleri**; Streptococcus MG
12 **Streptococcus sanguis**; Streptococcus s.b.e.
13 **Streptococcus mitior**; *S. viridans*; *S. mitis*
14 **Streptococcus mutans**

α Green zone around colonies on blood agar.
β Clear, colourless zone around colonies on blood agar.
[a] CO_2 needed for growth on simple media; on blood agar growth improved by 10 % CO_2.
[b] Positive on 4 % NaCl.
[c] Group G strains positive.
[d] Levan produced on sucrose media.
[e] Dextran produced on sucrose media.
[f] Strains that do not have group K antigen are VP positive.
[g] On this line capital letters in heavy type are the serological group designations; Ott = Ottens antigens, see Ottens & Winkler (1962) and Willers, Ottens & Michel (1964).
[h] Extracts of some strains do not react in the precipitin test.

جدول رقم (4)

	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Catalase (in presence of heated blood)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Motility	–	d	–	–	–	–	–	–	–	–
Haemolysis	–/β	–/α	β	α/–	α	α	.	α	.	+[a]
Growth at 45 °C	+	+	d	+	+	+	+	.	+	.
Growth at 50 °C	+	+	–	.	.	.	.	.	.	.
Survives 60 °C for 30 min	+	+	+	+	–	+	.	+	–	.
Growth at pH 9.6	+	+	.	–	–	–	+	+	–	.
CO_2 requirement	–	–	.	.	.	.	.	–[b]	.	.
Growth in 6.5 % NaCl	+	+	+	–	–	–	+	+	.[c]	.
Growth on 40 % bile	+	+	+	+	+	–	.	+	.	.
Growth in 1/4000 tellurite	+			.	.	.	–		.	.
Citrate as C source	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carbohydrates, acid from:										
arabinose	–	+	–	d	–	–	+	d	+	w/–
glycerol	+	–	–	.	–	+	+(O)	+(O)	–	.
lactose	+	+	+	+	–	+	.	+	+	–
mannitol	+	+	–	d	–	+	.	d(O)	–	w/–
raffinose		.	–	+	.	–	.	d	+	.
salicin	+	+	d	+	+	+	.	+	+	.
sorbitol	+			.		+	+	d(O)		w/–
sucrose	d	.	–	+	+	+	.	+	+	+
trehalose	+	+	d	d		+	.	+	.	.
Aesculin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	.	w/–	.	.
Litmus milk	NAC	A	AC	A		NAC	.	A	(A)	.
Gelatin liquefaction	d		.	.	–	–		–	.	.
Arginine hydrolysis	+	.	+	–		+	–	–	–	.
Hippurate hydrolysis	d	d	d	–	.	+	.	+	.	.
CAMP test	–		–	–	.	–[d]	–	.	.	.
Bile solubility	.	.	–	–	–	–	–	–	–	.
Polysaccharide antigens[e]	D	D	D	D	D		DQ	–	.	.

15 **Streptococcus faecalis**
16 **Streptococcus faecium**
17 **Streptococcus faecium** var. **durans**; *S. durans*
18 **Streptococcus bovis**
19 **Streptococcus equines**
20 **Streptococcus uberis**
21 **Streptococcus avium**
22 **Aerococcus viridans**; *Pediococcus urinae-equi*; *Gaffkya homari*
23 **Pediococcus cerevisiae**
24 **Gemella haemolysans**; *Neisseria haemolysans*

α Green zone around colonies on blood agar.
β Clear, colourless zone around colonies on blood agar.
[a] On rabbit blood only; negative on sheep blood.
[b] At 30 % may be slightly inhibitory.
[c] Inhibited by 8 % NaCl.
[d] Some strains are CAMP positive (Shuman *et al.* 1972).
[e] On this line capital letters in heavy type are the serological group designations.

جدول رقم (5)

	1	2	3
Carbohydrates, acid from:			
glucose	+	+	+
lactose	–	+	+
maltose	–	+	d
sucrose	–	–	+
Gas production	+	+	+
Gelatin liquefaction	–/w	–/w	–

1 **Peptococcus** spp. (7 spp. in ALM)
2 **Peptostreptococcus** spp. (5 in ALM); *P. putridus*; *Streptococcus putridus*
3 **Leuconostoc** spp.

جدول رقم (6)

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

تعتمد معاملة العينة في الشخص المخبري على مصدر العينة، إلا أن هناك اعتبارات تشخيصية عامة لجميع العينات وهذه الاعتبارات هي :

1. الفحص المجهري Stained smears :

يؤخذ من النمو البكتيري على الشريحة وتصبغ بواسطة طريقة جرام حيث تظهر gram + ve وتترتب على شكل سلاسل متفاوتة في الطول .

2. الزراعة Culturing :

حيث تؤخذ العينة المرضية ويتم زراعتها على أوساط مناسبة وافضل وسط لتنمية الـ Streptococci هو الـ Blood agar وعلى درجة حرارة مثلى ، هي 37° م . وتتراوح الفترة الزمنية اللازمة لتنميتهاحوالي 24–48 ساعة تقريباً وفي بعض العينات تحتاج إلى أكثر من ذلك .

3. التجارب المصلية Serological test :

وفي هذه يمكن الكشف عن وجود نوع البكتيريا باستخدام نوع خاص من الأجسام المضادة ، وذلك باستخدام تفاعلات الترسيب العادية .

العلاج Treatment :

تعتبر هذه البكتيريا خاصة β - hemolytic streptococcus حساسة للبنسلين من نوع (G) ، وكذلك الـ Sulfonamide ، ولكن يجب عمل تجربة الحساسية للمضادات الحيوية للبكتيريا التي عزلت من العينة المرضية .

المكورات الرئوية PNEUMOCOCCI

التصنيف :

الحقيقة أن وضع هذا الجنس في عالم تصنيف البكتيريا غير ثابت تقريباً حيث إن الجمعية الأمريكية لباحثي علم البكتيريا قد وضعوها تابعة للجنس Streptococcus حيث إنها تظهر صفات مشابهة لها خاصة لـ *Strep. viridans*، وقد سميت كذلك بـ *Streptococcus pneumoniae* وقد قسمت من الناحية المصلية إلى أنواع III, II, I .

الشكل Morphology

تتميز هذه البكتيريا بشكل خلاياها البيضاوي وإنها gram + ve ، وتترتب على شكل أزواج ، وتحتوي على محفظة Capsulated ، ويمكن أن تظهر على شكل سلسلة طويلة ، أما إذا زرعت في أوساط سائلة فإنها تظهر على شكل سلاسل قصيرة مصطفة على شكل أزواج ، هذه البكتيريا غير متحركة ولا تحتوي على أبواغ .

الصفات الزراعية .Cultural charact

هذه البكتيريا هوائية ولا هوائية اختيارية، درجة الحرارة المثلى هي 37 م ومدى الحرارة هي من 25–40 م .

يمكن أن تنمو بضعف على الأوساط العادية ، ولكن تنمو بشكل جيد على الأوساط الغنية خاصة إذا أضيف اليها المصل أو الدم . وإضافة الجلوكوز إلى الوسط يسمح بزيادة كمية النمو ، وكذلك الحال عند الزراعة يفضل أن يكون الجو محتوياً على 5٪ ثاني أكسيد الكربون .

ففي الأوساط السائلة مثل Serum broth ، يظهر النمو خلال 24 ساعة على شكل عكورة عامة مميزة بوضوح . ولكن باستمرارية الحضانة فان الوسط يميل لأن يتحول من العكوره إلى الصفاء ويعزى ذلك للتحلل الذاتي للبكتيريا .

أما على الأوساط الصلبة (Blood agar) فتظهر المستعمرات (Colonies) صغيرة شبه شفافة، وعادة تحاط المستعمرات بحلقة من التحلل من نوع الفا حيث يمكن أن يسبب إرباكاً في التمييز بينها وبين *Strep. viridans* . وعند زراعتها على BLOOD agar مسخن فإن اللون الأخضر يظهر بوضوح أكثر .

الصفات الكيمائية الحيوية .Biochemical char

لا تستطيع هذه البكتيريا أن تجعل الجيلاتين سائلاً،ولا تكون الأندول (Indole) ، تخمر بعض السكريات مع إنتاج الحامض ، ولكن من دون غاز ، لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 4 .

Bile solubillity

تعتبر الـ pneumococci قابلة للذوبان في الصفراء، ويمكن منع الصفة بتسخين البكتيريا لمدة 30 دقيقة على درجة 56م .

ولإجراء الفحص يمكن أخذ كمية قليلة من (قطرتين إلى أربع قطرات) من محلول Na-desoxycholate مخفف بنسبة 10:1 ، وتضاف هذه الكمية إلى 5 مللتر من نمو البكتيريا في الأوساط السائلة (Broth culture) ، ويتم الانتظار لمدة 10-15 دقيقة على درجة 37 م ، وبعد ذلك يصبح النمو البكتيري للـ Pneumococci في الأوساط السائلة صافياً على درجة PH 6.6 وهذا دليل على أن البكتيريا قد تحللت .

Quellung reaction (Swelling test) فحص الانتفاخ :

عند خلط نوع معين من الـ Pneumococci مع مصل يحتوي على أجسام مضاده ضد هذا النوع من الـ Pneumococci على شريحة زجاجية فإن المحفظة ستنتفخ بشكل واضح ، وهذا التفاعل يفيد في التشخيص السريع ، وفي معرفة نوع البكتيريا .

التركيب الأنتجيني Antigenic structure :

تتركب الـ Pneumococci من الناحية الأنتجينية من :

1. عديد التسكر الكابسولي (Capsular polysacch.) ويرمز لها بالرمز S.S.S. = (Specific soluble substances) .
2. الجزء الجسدي ويحتوي على M - protein .
3. C- carbohydrate

الإصابة Pathogenicity

عند حقن المواد المصابة والمحتوية على Pneumococci مثل البلغم (Sputum) أو نمو من الـ Pneumococci الضار تحت الجلد في الأرنب والفأر ، فان ذلك سينتج تطوراً سريعاً في إحداث تعفن الدم (Septicemia) ، تنتقل الجراثيم مباشرة على طول الممرات الهوائية أو وساطة مجرى الدم أو وساطة الأوعية اللمفاوية للشعب الهوائية .

في كثير من الحالات يمكن ظهور الـ Pneumococci في الدم عن طريق زراعة الدم ويمكن ظهور هذه البكتيريا في مضاعفات التهاب الرئة مثل التهاب القلب (Endocarditis) والتهاب السحايا (Meningitis) ، وعادة ما يكون التهاب السحايا الذي تسببه الـ Pneumococci مرتبطاً مع التهاب الأذن الوسطى . وهذا الحال يظهر عادة وبكثرة في الأطفال وربما يكون بدائياً أو ثانوياً للتعرض للإصابة ببكتيريا الـ Pneumococci .

وفي بعض الأحيان يمكن أن يحـدث التهـاب للغشـاء المبطـن للبطـن **Perotonitis** تسببه الـ **Pneumococci** ويظهر ذلك في الأطفـال . ويمكـن التفكـير بـأن الإصابـة تظهـر بوساطة الانتشار المباشر عبر قنوات فالوب من الفرج .

يعتبر النوع **III** هو أكثر الأنواع قدرة على إحداث الموت ، ويعتبر معدل الوفيات حوالي **80٪** أو أكثر بسبب هذا النوع .

ولقد وجد معدل الوفيات في حالـة الإصابـة بـالنوع **III** والـتي تظهـر فيهـا نتيجـة زراعة الدم إيجابية هي **100٪**، وعادة ما تكون نتيجة زراعة الدم في المراحل البدائية إيجابية

التشخيص المخبري **Lab. diagnosis**

1. تتخذ نفس الإجراءات التي اتخذت في حالة الإصابة بـ **Streptococci** .



2. البكتيريا الكروية السالبة لصبغة جرام
Gram Negative Cocci Bacterria

NEISSERIA

ينتمـي للعائلـة Neisseriaceae الأجنـاس Acinetobacter و Kingella و Moraxella وBranhamella وNeisseria .

لقـد أظهـرت الطبعـة الأخـيرة مـن Bergey's Manual of Systemic Bacteriology "وجيز برجيزفي تنظيم البكتيريا" إرباكـاً حيـث إعتـبرت Branhamella شبهجنسSubgenus للجنـس Moraxella.واعتمـد حديثـاً (عـام1994) علـى تسـمية الـ *Branhamella catarrhalis* بـ *Moraxella catarrhalis* .

تتميز هذه الجراثيم بأنها إيجابية التفاعل مع تجربة الـ Oxidase وسالبة التفاعل مع صبغـة جـرام Gram negative ، كرويـة الشـكل تـترتب علـى شـكل أزواج وتظهـر داخـل الخلايـا البيضـاء المتعادلـة عنـد صبغهـا مـن العينـات المرضيـة مباشـرة ولهـذا تسـمى بـ gram - negative intracellular diplococci (GNID) . يسـتثنى مـن هـذه الصفات البكتيريا *N. elongata* حيث تظهر عصوية الشكل وتتمدد في الطول تحت تأثـير المضادات الحيوية .

تعتبر هذه الجراثيم بصفـة عامـة سـاكناً طبيعيـاً للجهـاز التنفسـي والقنـاة الهضميـة والأغشية المخاطية للقناة التناسلية البولية في الإنسان . تعتبر الــ *N. catarrhalis* مسـبباً لإصابة الجهاز التنفسي. وتنمو هذه البكتيريا تحت نفس ظروف نمو الـ*N. meningitids* .

هناك عضوان أساسيان مسببان للأمراض وهما :

Neisseria maningitidis و *Neisseria gonorrheae*

والأول هو المسبب لالتهاب السحايا الدماغية (الحمـى البقعيـة *Spotted fever*) ويمكن أن تسبب حالة تعفن الدم الحاد أو المزمـن ودون أن تسـبب التهـاب السـحايا . أما

الثاني فيسبب مرض السيلان (Gonorrhoea) ، المرض الجنسي الذي يتصف بإصابة والتهاب مجرى البول (Urethritis) عند الذكور ، والتهاب مجرى البول وعنق الرحم (Cervicitis) عند الإناث ، ويمكن ظهور مضاعفات موضعية أو متحركة .

Neisseria meningitidis

(Meningococcus)

الشكل Morphology :

خلايا كروية أو بيضاوية تترتب على شكل أزواج (Diplococci)، وعادة تترتب الخلايا المزدوجة على محاور متوازية g - ve ، غير محتوية على محفظة (Non capsulated) ولكن عند تفاعل هذه البكتيريا مع أجسام مضادة خاصة فإن مركبات شبيهة بالمحفظة تظهر بشكل واضح . وفي سائل النخاع الشوكي (C.S.F) ، توجد البكتيريا داخل خلايا الدم البيضاء وهذه صفة مميزة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هذه بكتيريا هوائية ، وعند الزراعة لأول مرة يفضل إجراء الزراعة تحت ظروف متوفر فيها 5٪ ثاني أكسيد الكربون . يتراوح مدى درجة الحرارة بين 25–42 درجة مئوية ، ولكن الدرجة المثلى هي 37 م ، والـ PH المناسب هو 7 – 7.4 وتنمو على Nutrient agar ، ولكن يحث النمو بإضافة الدم أو المصل .

يعتبر الوسط الـ Chocolate agar من أفضل الأوساط الغذائية لنمو هذه البكتيريا حيث تظهر مستعمرات صغيرة ، رمادية ، شفافة كالأقراص الدائرية ، ويمكن أن تظهر حافة المستعمرات منشارية (Crenated) بعد 48 ساعة . وتقتل هذه البكتيريا على درجة 55 م خلال خمس دقائق أو أقل .

ويمكن استخدام Thayer - Martin medium مضافاً إليها المضاد الحيوي Colistin لمنع نمو العصيات السالبة لصبغة جرام و Nystatin لمنع نمو الخميرة وVancomyein لمنع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، والمحسن من هذا الوسط (MTM) يحوي Trimethoprim Lactate لمنع انتشار الـ Proteus .

الصفات الكيميائية الحيوية Biochemical Char.

يمكن أن تفحص نشاطاتها الكيميائية الحيوية بتنميتها على Peptone water agar محتوي على 5٪ مصل و 1٪ من السكر المعني مضافاً إليه الكاشف .

تخمر هذه البكتيريا الجلوكوز والمالتوز بإنتاج الحامض دون غاز ، وليس لها تأثير على اللاكتوز أو السكروز أو الأنيولين Inulin .

لمزيد من التفاصيل ينظر الجدول رقم 7 .

التركيب الأنتجيني Antigenic structure

وصف بعض العلماء أربعة أنواع مصلية هي I و II و III و IV وآخرون وصفوا نوعين فقط هما النوع I و II ، ومسبب التهاب السحايا هو النوع I أو A . وصنف حديثاً من الناحية المصلية إلى تسعة أنواع مصلية هي A و B و C و D و X و Y و Z ، 2qE و W135 وأهم الأنواع هي A و B و C و Y خاصة في الولايات المتحدة .

واعتمد التصنيف أعلاه على أساس السكريات المعقدة في المحفظة Capsular polysaccharide

الإصابة Pathogenicity :

تعتبر هذه البكتيريا سامة جداً ، وقد صنف السم الذي تنتجه كسم داخلي (Endotoxin) ، ولذلك يمكن أن ينتشر من البكتيريا كنتيجة للتحلل الذاتي السريع في الزراعة .

تقطن الـ Meningococcus بشكل طبيعي في البلعوم الأنفي (Nasopharynx) أو في الجزء الخلفي من تجويف الفم المتصل مع الفتحتين الأنفيتين الداخليتين ، حيث توجد في حوالي 5 – 10٪ من الأشخاص السليمين .

عند نشوب وظهور الحمى الدماغية ، فإن معدل حاملي المرض يرتفع من 50 – 90٪.ويعتقد بأن طريق الـ Meningococcus من البلعوم الأنفي إلى السحايا (Meninges) هو من خلال الدم . ففي المراحل المبكرة من الإصابة تكون نتيجة زراعة الدم عادة إيجابية .

من النادر أن تكون الإصابة الأولية بالـ Meningococcus من التهاب ملتحمة العين (Conjunctivitis) والتهاب عضلات القلب (Endocarditis) ، بينما تظهر بعض المضاعفات للإصابة بهذه البكتيريا منها التهاب الأذن الداخلية (Labyrinthitis) والتهاب المفاصل (Arthritis) .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

في حالة الاشتباه بالتهاب السحايا يجب أن يسحب سائل النخاع الشوكي (CSF) فوراً من خلال تقب في العمود الفقري (Lumber - puncture) .

وفي حالة التهاب السحايا الدماغية ، يكون سائل النخاع الشوكي عادة عكر بسبب وجود العدد الكبير من الخلايا القيحية (Pus cells) . وفي الحالات الحادة والمبكرة فان عدداً كبيراً من الجراثيم يكون موجوداً في السائل بينما في المراحل النهائية أو المزمنة ينخفض عددها ، وربما تكون هذه الجراثيم غير موجودة تماماً .

يرسب السائل (CSF) على جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) ، وتحضر شريحة من الراسب وتصبغ بطريقة جرام ، وتصبغ كذلك بوساطة Methylene blue .

تجرى زراعة للسائل على Blood agar أو على Chocolate agar ، وتحضن في جو يحتوي على 5–10٪ ثاني أكسيد الكربون .

تحضر شريحة من ناتج الزراعة ، وكذلك تفحص الصفات الكيميائية الحيوية ، ويمكن استخدام التفاعلات المصلية باستعمال أمصال خاصة ضد هذه البكتيريا .

Neisseria gonorrhoeae
(Gonococcus)

الشكل Morphology :

خلايا بيضاوية تترتب على شكل أزواج Diplococcus بوجهين متقابلين ، ومن الناحية الشكلية فإن الـ Gonococcus مشابهة للـ Meningococcus . وتظهر الخلايا القيحية عادة وبشكل كبير جداً مع الخلايا المزدوجة الـ Diplpcocci .

الصفات الزراعية .Cultural char :

هذه البكتيريا هوائية (Aerobe) ومدى درجة الحرارة 30–39 م ، والمثلى هي 37م ويتطلب لنموها دم أو مصل . أما الـ PH المناسب فهو 7.5 ، ويفضل إضافة 5٪ من ثاني أكسيد الكربون لتنشيط النمو .

وعلى Serum agar تظهر المستعمرات شبه شفافة ، صغيرة الحجم دائرية في البداية ثم منشارية تالياً ، وبعد إطالة فترة الحضانة .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical Char :

تخمر الـ Gonococcus الجلوكوز ولكنها لا تخمر المالتوز . ولمزيد من المعلومات ينظر جدول رقم 7 .

الإصابة Pathogenicity :

تعتبر الـ Gonococcus طفيل مجبر ، ففي الذكور تصيب البكتيريا الغشاء المخاطي لمجرى البول ، وتنتج التهاباً متقيحاً مع إفرازات صديدية . وتوجد الخلايا الكروية بأعداد كبيرة في هذه الإفرازات خاصة في المراحل البدائية، ولكن في النهاية يقل العدد تماماً .

ويمكن للمرض أن ينتشر نحو الخلف باتجاه البروستاتا ، والأوعية المنوية والبربخ (Epididymis) .

بينما في الإناث البالغات فإن مجرى البول وعنق الرحم من الأعضاء الأكثر تعرضاً للإصابة ، ولكن من النادر أن تحدث الإصابة في الغشاء المخاطي للمهبل ، ويمكن للإصابة أن تحدث في الجدار المبطن للرحم وأنابيب فالوب متسببة التهاباً فيها (Salpingitis) ، ومن المحتمل أن تحدث الإصابة في التجويف الداخلي للبطن . أما بالنسبة لغزو البكتيريا للدم فمن المحتمل أن يكون نتيجة للإصابة بالسيلان الأولي ، ويمكن حدوث التهاب في المفاصل كإحدى المضاعفات .

وفي حالة الإناث حديثات الولادة، والأطفال تنتج الـ Gonococcus التهاب الفرج والمهبل Vulvo - vaginitis ويحتمل إصابة المستقيم كذلك .

وتحدث حالات كثيرة في قسم الأطفال في المستشفيات ، وكذلك المؤسسات التعليمية للأطفال ، ولكن هذا نادرٌ الآن .

وفي الأطفال حديثي الولادة يمكن حدوث الإصابة بسيلان العيون (Gonococcal opthalmia) ، نتيجة لالتهاب المجرى التناسلي للوالدة أثناء عملية الولادة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

1. تحضير لطخة على شريحة من الإفرازات :

ففي الذكور يؤخذ إفراز مجرى البول ، ينظف المخرج بمحلول ملحي (Saline) ، ثم تجمع العينة مباشرة على شريحة أو بوساطة الـWire loop . أما في الإناث فتأخذ العينة من مجرى البول أو من عنق الرحم اما بوساطة الـWire loop أو بوساطة الماسحة القطنية Cotton swab وبمساعدة الـVaginal speculum (المنظار المهبلي) .

تصبغ الشريحة بوساطة الـ Methylene blue وطريقة جرام، وتشاهد تحت المجهر الخلايا الكروية المزدوجة Diplococci داخل الخلايا البيضاء ، حيث تظهر g - ve .

وفي الحالات المزمنة تظهر الـ Gonococcus بأعداد قليلة عند الإناث ، ولذلك يفضل فحص الإفرازات من عنق الرحم، أما الذكور فيفضل فحص القطرات الصباحية Morning drop لمجرى البول ، أو يمكن تحضير شريحة وصبغها من إفرازات البروستات المرسبة على جهاز الطرد المركزي .

2. يجب عمل الزراعة Culture والنشاطات الكيميائية الحيوية : لتأكيد مشاهدات الشريحة . فللزراعة يفضل أخذ الإفرازات مباشرة على الوسط، وإذا كان صعباً يمكن استعمال الماسحة Swab ووضعها في أنبوب يحتوي على Stuart's transport media .

3. Oxidase media :

يجب الزراعة على أطباق من الـ Chocolate agar ولمدة 48 ساعة ، ثم إضافة 1٪ من محلول Tetramethyl - para - phenylene - diamine على النمو ، وعندها ستتلون المستعمرات باللون البنفسجي ، وتستخدم هذه التجربة للتأكد من الـ Gonococcus بعد تحضير الشريحة والزراعة والصفات الكيميائية الحيوية .

: ELISA .4

لقد وجد أن فحص الـ ELISA فحص حساس ومتخصص للتحقق من أنتجين بكتيريا السيلان في إفرازات الإحليل وعنق الرحم عند المشتبه بهم بالسيلان ، مع ذلك فلا يمكن أن يكون هناك فحص أكثر حساسية من طريقة صبغة جرام في فحص إفرازات الإحليل عند الذكور .

إن فحص الـ ELISA مناسب وسريع مقارنة بالزراعة ويستخدم بكثرة في الفحوصات المسحية عند الأشخاص الممارسين للجنس بشكل متكرر ، حيث تستغرق 4–6 ساعات لأخذ النتيجة .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Gram reaction	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	±[a]	–	–
Growth under anaerobic conditions	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	w	+	–
Catalase	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	–	D	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	.	–
Carbohydrate breakdown [F/O/–]	O	O	?	O	O	.	–	–	–	–	F	–	O
Pigment	–	–	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–
Haemolysis	–	–	–	–	–	–	–	–	α	β	β	–	–/β
Growth at 22 °C	–	–	+	+	+	(+)	+	w	w	w	+	w	+
Growth on nutrient agar	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+
Requirement for blood or serum	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Carbohydrates, acid from:													
glucose	+	+	–[b]	+	+	d	–	–	–	–	+	–[c]	+
lactose	–	–	–	–	(+)	–	–	–	–	–	–	.	+
maltose	–	+	–[b]	+	–	–	–	–	–	–	+	.	d
sucrose	–	–	–[b]	d	–	(+)	–	–	–	–	+	–	–
Nitrates reduced	–	–	–	–	+	+	–	d	+	+	–	+	–

1 **Neisseria gonorrhoeae**; gonococcus
2 **Neisseria meningitidis**; *N. intracellularis*; meningococcus
3 **Neisseria flavescens**
4 **Neisseria pharyngis**; *N. flava*; *N. perflava*; *N. subflava*; *N. sicca*
5 **Neisseria mucosa**; *Diplococcus mucosus*
6 **Neisseria animalis**
7 **Neisseria elongata**
8 **Branhamella catarrhalis**; *Neisseria catarrhalis*
9 **Branhamella caviae**; *Neisseria caviae*
10 **Branhamella ovis**; *Neisseria ovis*
11 **Gemella haemolysans**; *Neisseria haemolysans*
12 **Veillonella** spp.
13 **Acinetobacter anitratus**

[a] Gram positive but easily decolorized.

[b] Negative on isolation; after some time in artificial cultivation may be positive.

[c] May be positive in some media.

جدول رقم (7)

3. البكتيريا العصوية السالبة لصبغة جرام

Gram Negative Enteric Bacteria

Enterobacteriaceae

لقد عزلت أعضاء هذه العائلة بشكل متكرر من عينات مرضية مختلفة ، فأظهرت صفات منها: عصوية و g - ve وتنمو بشكل جيد على الأوساط العادية والغنية ومستعمراتها متميزة على الأوساط الاختيارية معتمدة على صفاتها الحيوية ومحتوى الأوساط الزراعية . تعتبر بعض الأنواع مسببة للمرض بشكل تقليدي مثل **Salmonella** و **Shigella** و *Yersinia pestis* .

وبعض الأنواع الأخرى تنمو في جسم الإنسان من دون أن تسبب له أمراضاً مثل الساكن الطبيعي في الأمعاء . بينما إذا انتقلت إلى مواقع حساسة أخرى في الجسم فإنها ستؤدي إلى إصابة مثل الدم وسائل النخاع الشوكي والجهاز البولي .

إن تشخيص أفراد هذه العائلة مهم على المستوى الوبائي والسريري . حيث تسمح للطبيب باختيار المضاد الحيوي المناسب مما يؤدي إلى القضاء على الإصابة بهذه الأنواع .

لقد ارتفع عدد الأنواع المميزة التابع لهذه العائلة خلال السنوات القليلة الماضية من 26 نوعاً إلى أكثر من 100 نوع سمي منها حوالي 90 نوعاً .

وقد أعطى توفر المواد اللازمة للتشخيص المبنية على التفاعلات الكيميائية والأنزيمية إمكانية فعالة للتشخيص على مستوى النوع من قبل العاملين في مختبرات الأحياء الدقيقة . وإليك نبذة موجزة عن أجناس **genera** مختارة من هذه العائلة وبعض الأنواع **species** التابعة لها:

بعض الأجناس المنتقاة من العائلة

SELECTED GENERA AND SPECIES OF ENTEROBACTERIACEAE

GENUS الجنس	النوع SPECIES	التعليقات COMMENTS
Budricia	*aquatica*	تتواجد في ماء الشرب و المياه السطحيه ، عزلت من براز الإنسان
Buttiauxella	*agrestis*	تتواجد في الماء ولا ترتبط بأمراض الإنسان
*Cedecea**	*davisae* *lapagei* *neteri* *(others)*	عزلت من الإنسان وبشكل رئيسي من القناة التنفسية والجروح .
Citrobacter	*amalonaticus* *diversus* *freundii* *(others)*	عزلت من عينات مرضية للإنسان مثل الجروح و البول وحالات التعفن والبراز الطبيعي . وعزلت كذلك من البيئة .
Edwardsiella	*hoshinae* *ictaluri* *tarda* *(others)*	عزلت من الإنسان والحيوان ، ومرتبطة بالإسهالات والتهابات الجروح والتعفن .
Enterobacter	*aerogenes** *agglomerans** *amnigenus** *asburiae** *cloacae** *dissolvens* *gergoviae** *intermedium* *nimipressuralis* *sakazakii** *toylorae** *(others)*	شائعة جداً ، ساكن طبيعي في الأمعاء الغليظة عزلت من الجروح والجهاز التنفسي ، والبول والدم ووجد النوع *E. agglomerans* كذلك في الحيوانات وأنواع أخرى وجدت في البيئة . أهم واحدة سريرياً هي *E. cloacae* والنوعان *E.agglomerans* و*E. sakazakii* يتلونان باللون الأصفر .
Erwinia	*amylovora* *(others)*	ترتبط بإصابات النباتات .

الجنس GENUS	النوع SPECIES	التعليقات COMMENTS
Escherichia	*blattae* *coli** *hermannii** *vulneris**	
*Ewingella**	*americana*	عزلت من عينات بشرية مثل الجهاز التنفسي والدم ، لا يعرف إن كانت موجودة في البيئة .
*Hafnia**	*alvei* *(others)*	عزلت من عينات بشرية مثل الجهاز التنفسي وغيره . لا يعرف إن كانت موجودة في البيئة .
Klebsiella	*oxytoca* * *planticola** *pneumoniae** *pneumoniae* *subsp. ozaenae* *pneumoniae* *subsp.* *rhinoscleromatis* * *terrigena*	ساكن طبيعي في الأمعاء الغليظة ، توجد بعض السلالات في البيئة ، وعزلت من القناة التنفسية والبول والجروح والدم . يتواجد النوع *K. terrigena* فقط في الماء
*Kluyvera**	*ascorbata* *cryuocrescens*	من المحتمل أنها ساكن طبيعي في الأمعاء الغليظة ، وعزلت من عينات بشرية مثل القناة التنفسية والدم والبول.
*Leclercia**	*adecarboxylata*	عزلت من الإنسان مثل القناة التنفسية ، والدم والبول والجروح ووجدت كذلك في الماء والغذاء .
*Leminorella**	*grimontii* *richardii*	عزلت من براز الإنسان، منتجة للـ H2S، لم يعرف ضررها للإنسان .
*Moellerella**	*wlsconsensis*	عزلت من براز الإنسان والمياه الطبيعية ، لم يعرف ضررها للإنسان مقاومة للـــ Colistin .

الجنس GENUS	النوع SPECIES	التعليقات COMMENTS
*Morganella**	*morganii* *(others)*	عزلت من البراز الطبيعي ومن إصابات بشرية مثل البول والدم وغيرها
Obesumbacterium	*pioteus*	عزلت من خميرة البيرة ، لم يعرف ضررها للإنسان .
Pantoea	*agglomerans* *dispersa* *(others)*	مشابهة للـ *E. agglomerans* ضارة للنباتات وتنتج صبغة صفراء .
Pragia	*fontium*	توجد في مياه الشرب والبراز الطبيعي للإنسان تنتج معظم السلالات H2S .
Proteus	*mirabilis** *myxofaciens* *penneri** *vulgaris**	معظم الأنواع ساكن طبيعي في الأمعاء الغليظة وعزلت من إصابات بشرية مثل البول والجروح والدم وغيرها . عزل النوع *p. myxofaciens* من العث أو الفراش فقط . يشبه النوع *p. penneri* والنوع *p. vulgaris* بما فيها الانتشار ولكنها سلبية مع الأندول ومقاومة للـ chloramphenicol
Providencia	*alcalifaciens** *heimbachae* *rettgeri** *rustigianii** *stuartii**	معظم الأنواع ساكن طبيعي للأمعاء الغليظة ، عزلت من إصابات بشرية ، مثل البول والجروح والدم . لم يعرف النوع *p. rustigianii* بضرره للإنسان .
*Rahnella**	*aquatilis*	عزلت من الماء ، لم يعزل من الإنسان الإمرة واحدة، لا يعرف ضرره للإنسان .
*Salmonella**	*(enterica)* *2000 serovars*	منتشرة كثيراً في الإنسان والحيوان ، مسببة لالتهاب الأمعاء المعدي ، والحمى المعوية . يتبع الآن Arizona للجنس Salmonella .

الجنس GENUS	النوع SPECIES	التعليقات COMMENTS
*Serratia**	*ficaria* *fonticola* *grimesii* *marcescens* *odorifera* *plymuthica* *rubidaea* *(others)*	عزلت من الإنسان والمياه ونادراً من الحيوانات . بعض الأنواع ذات أهمية مرضية للإنسان وعزلت من القناة التنفسية والجروح والدم والبول وغيرها . الأنواع *S. ficaria* و *S. odorifera* و *S. plymuthica* غير معروفة الضرر للإنسان . لا يتبع النوع *S. fonticola* غالباً لهذا الجنس .
*Shigella**	*boydii* *dysenteriae* *flexneri* *sonnei*	يعتبر الإنسان مستودعاً لها ولا تعتبر ساكناً طبيعياً فيه ، تسبب التهاب القناة المعدية المعوية والزحار البكتيري ، تشبه جينياً الـ *E. coli* .
*Tatumella**	*ptyseos*	عزلت من الإنسان وخاصة من القناة التنفسية ، والبول والدم وتختلف عن أعضاء العائلة باحتوائها على سوط قطبي ، نموها ضعيف ، تنمو بشكل جيد تحت 25°م ، حساسة للبنسلين .
Xenorhabdus	*luminescens* *nematophilus*	عزلت من الحبليات فقط ، تنمو فقط تحت 25°م وليس 35°م لم تعزل من الإنسان .
*Yersinia**	*aldovae* *enterocolitica* *frederiksenii* *intermedia* *kristensenii* *pestis* *philomiragia* *pseudotuberculosis* *ruckeri*	عزلت من الإنسان والحيوان والبيئة ، بعضها ضار للإنسان ، تسبب الطاعون و التهاب القناة المعدية المعوية ، والتهابات أخرى ، عزلت من البراز والدم والبول والجروح . لا يوجد النوع *Y. ruckeri* في الإنسان ويسبب إصابة في السمك تسمى "الفم الأحمر ولا تعتبر عضواً حقيقياً في هذا الجنس .
Yokenella	*regensburgei*	عزلت من براز الإنسان والجروح والقناة التنفسية ومفصل الركبة .
		عزلت من عينات مرضية

Escherichia coli

تتبع هذه البكتيريا إلى العائلة Enterobacteriacea . وهي ساكن طبيعي لأمعاء الإنسان وبعض الحيوانات، ولذلك فإن وجودها في مراكـز تزويـد الميـاه يكـون دلالـة علـى تلوثها بمياه المجاري والفضلات .

الشكل Morphology

g - ve ، لا تحتوي على أبواغ ، عصوية Bacilli ، متحركة بنشاط (تحتوي علـى أسواط Flagella) ، قليل منها يحوي محفظة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ولا هوائية اختيارية، مدى درجة الحرارة يتراوح من 15–41 م، أما الدرجة المثلى فهي 37 م .

تظهر المستعمرات على الـ Nutrient agar ، سميكة، رطبة، بيضـاء علـى شـكل القبة وناعمة، كبيرة ومعتمـة . بينمـا علـى MacConkey's فتظهـر المستعمرات زهريـة اللون أو وردية بسبب تخميرها لسكر اللاكتوز .

الصفات الكيميائية الحيوية .Bioch-char :

موجبة مع تجربة الأندول (+ Indole)، وتخمر اللاكتـوز والمنيتـول (mannitol) والسكروز ، أما الجلوكوز فينتج بالإضافة إلى الحـامض الغـاز. وليـس عندهـا القـدرة علـى إسالة الجيلاتين .

لمزيد من التفصيل ينظر جدول رقم 8 و 9 .

التركيب الأنتيجني Antigenic structure

هناك أكثر من 150 نوعاً من الأنتجين الجسدي(O-Antigen) للـ *E. coli* ، وتسمى O- 56، O-111... الخ . وقد تم التحقق منها بوساطة تفاعلات التخثر المتخصصة وهناك كذلك حوالي 50 (H) أنتجين سوطي وأكثر من 90 (K) أنتجين من المحفظة (الكابسول) .

الإصابة Pathogenicity :

عموماً يمكن حدوث الإصابة عند الإنسان غالباً بسبب *E.coli* في القناة البولية .

ويمكن أن تنتقل هذه الجراثيم من الأمعاء إلى الجهاز البولي إما عن طريق الدم (Hematogenous) أو عن طريق الأوعية اللمفاوية (Lymphatic route) ، ولكن كثيراً من حالات الإصابة في الجهاز البولي يمكن أن تحدث من جراء دخول الجراثيم عبر الأحليل (Urethra) ثم إلى المثانة البولية (Urinary bladder) ، وتنتقل غالباً إلى الحالبين Ureters وأخيراً إلى الكليتين (Kidneys) .

عادة لا يحتوي البول على البكتيريا ، وعندما يبلغ عدد البكتيريا في البول أكثر من 100000 خلية / مللتر من البول تكون حالة التهاب بكتيري .

وتسبب الـ *E. coli* حالة التهاب الغشاء المبطن للبطن (Peritonitis) ، والتهاب الزائدة الدودية (Appendicitis) ، والتهاب المرارة Infection of gallbladder ، والتهاب القناة الصفراوية (Infection of biliary tract) ، وكثيراً ما تسبب التهاب الجروح التي تتلوث بالبول والبراز . وإنه لمن المعلوم منذ أكثر من خمسين عاماً أن هناك أنواعاً من الـ *E. coli* المضرة يمكن أن تسبب التهاباً في الأمعاء . يظهر أعراضاً حادة تشبه أعراض الإصابة بالديزنطاريا التي تسببها الـ (Shigella) والتيفوئيد التي تسببه Salmonella والكوليرا (Cholera) .

تفرز الـ *E. coli* سماً (**Enterotoxin**) فعالاً متغيراً بالحرارة ، وهذا يكـون فعـالاً في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة، ولكن ليس في الأمعاء الغليظة . ولذلك فإن الأنـواع السامة من هذه البكتيريا يمكن أن تصل إلى الأمعاء الغليظة دون أن تحدث إصابة بها ولكـن تحدث الأصابة عندما توجد في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة .

التشخيص المختبري (Lab. diagnosis)

يشمل التشخيص المختبري :

1. جمع عينات من موقع الإصابـة مثـل البـول والقيـح والـبراز وأيـة إفـرازات أخـرى تحـت ظروف معقمة وبوساطة أدوات معقمة وفي حاويات كذلك معقمة .
2. يمكن تحضير لطخة على شريحة زجاجية نظيفـة وصبغهـا بطريقـة جـرام ومشـاهدة بعـض الصفات الشكلية ويمكن تحضير تقنية القطرة المعلقـة للتحقـق مـن حركـة البكتيريـا بعـد الزراعة.
3. زراعة العينات على وسط زراعي صلب مفرق مثل **MacConkey's** حيث تنمو هـذه البكتيريا معطية مستعمرات ورديـة بسـبب تخميرهـا لسـكر اللاكتـوز أو زراعتهـا علـى وسط اختياري **EMB** حيث تظهر مستعمرات خضراء لامعة مميزة .
4. اخـذ الصفـات الكيميائيـة الحيويـة وذلـك بحقـن المسـتعمرات النقيـة الناميـة في أنـابيب مختلفة من السكريات ومعرفة مدى تخمير البكتيريا لهذه السـكريات وإنتـاج الحـامض أو الحامض والغاز .
5. يمكن إجراء الفحوصات المصلية لمعرفة السـلالة المسببة للإصابـة وذلـك بتوافـر أمصـال متخصصة في المختبر ومفاعلتها مع البكتيريا المعزولة .
6. اعتمدت نتائج بحث نشـر في مجلـة العلـوم الطبيـة المختبريـة عـام 1986 حـول تشـخيص الـ *E. coli* من عينة بول بوساطة طريقة الزراعـة المباشـرة على الطبـق وتتلخـص هـذه الطريقـة بزراعـة العينــة علــى وســط صلــب يحــوي لقيمــة (**Substrate**) الأنزيـم

β - glucuronidase وفي اليوم التالي يمكن تشخيص المستعمرات بالمشاهدة العيانية مباشرة :

4- Nitropheny L-β-D- تزرع عينة البول على الوسط الصلب glucopyranosiduronic acid (NGA) وتحضن لليوم التالي تحت الظروف الهوائية العادية و PH الوسط 7.6 تظهر مستعمرات *E. coli* مغيرة للون الكاشف الموجود في الوسط وظهور اللون الأصفر . ولم تظهر هذه النتيجة أياً من أفراد العائلة المعوية Enterobacteriacea باستثناء الـ *Sh. Sonnei* التي أنتجت الأنزيم β - glucuronidase واختصت الـ *E. coli* بهذا الاهتمام في البحث بسبب مسؤوليتها المتكررة عن التهابات المسالك البولية .

Klebsiella

الشكل Morphology :

عصوية g - ve ، غير متحركة (Non - motile) ، لا تحتوي على ابواغ . تحتوي على محفظة وتنتج كميات كبيرة من المواد اللزجة خارج الخلية ولذلك تظهر مستعمراتها لزجة مخاطية (Mucoid) .



بكتيريا منتجة للمحفظة (كابسول) *K. pneumonia*

الصفات الزراعية .Cultural charac

على الوسط MacConkey's تظهر مستعمراتها كبيرة بارزة لونها زهري أو وردي (Pink) ، وذلك لأنها تخمر سكر اللاكتوز (جميع البكتيريا التي تخمر اللاكتوز تظهر مستعمرات زهرية) وتكون المستعمرات مخاطية ويمكنك التحقق من ذلك بِمَسِّ المستعمرات بعود خشبي مثلاً أو الـ Wire loop فإن تكون خيط من المخاط يكنْ دلالة على مخاطية المستعمرات .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Motility	D	+	D	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
Growth in KCN medium	−	−	−	−	D	−	−	+	+	+	+	+	D	+
Citrate as C source	−	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	d
Gas from glucose	D	+	−	−	+	D	−	+	D	+	d	+	D	D
MR test	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	d	−	D	+
VP test	−	−	−	−	−	−	d	−	d	+	+	+	D	−
Indole	+	+	−	d	D	−	−	+	D	−	−	−	D	−
Gelatin	−	−	−	−	−	D	+	−	D	−	+	(d)	D	−
Urease	−	−	D	−	D	−	−	+	D	−	d	d	+	d
Phenylalanine	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−	−	−	−
H_2S from TSI	−	+	−	−	D	+	·	−	D	−	−	−	−	−
Lysine decarboxylase	+	+	−	−	−	+	−	−	−	+	d	D	+	d
Ornithine decarboxylase	d	+	D	D	d	D	−	+	D	+	D	+	−	−
Details in Table	7.9*b*					7.9*d*				7.9*c*				

1 **Escherichia coli**; A–D group
2 **Edwardsiella tarda**; Asakusa biotype; Bartholomew group
3 **Yersinia** spp.
4 **Shigella** spp.
5 **Citrobacter** spp.; *Levinea* spp.
6 **Salmonella** spp. and serotypes
7 **Erwinia herbicola**
8 **Morganella morganii**; *Proteus morganii*
9 **Proteus** spp. (including Providence group)
10 **Hafnia alvei**
11 **Serratia** spp.
12 **Enterobacter** spp.
13 **Klebsiella aerogenes; K. atlantae; K. edwardsii; K. oxytoca; K. pneumoniae**
14 **Klebsiella ozaenae; K. rhinoscleromatis**

جدول رقم (8)

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char

تقوم هذه البكتيريا على تخمير كـل مـن الجلاكتـوز واللاكتـوز والجلوكـوز منتجـة حـامض وغـاز . وفحـص الانـدول (Indole) يكـون سـلبياً . ولمزيـد مـن التفـاصيل ينظـر الجدول رقم 8 و 10 .

الإصابة Pathogenicity :

توجد هذه البكتيريا في مستودعات ضـخ الميـاه ، ويمكـن عزلها مـن حالـة التهـاب المسالك البولية عند الإنسان ، وتوجد ، كذلك بنسبة 5٪ في أمعاء الإنسان الطبيعي .

بالإضافة للنوع *Klebsiella aerogenes* يوجد أنواع أخرى مثل *Kl.* *pneumonia* حيث تسبب حدوث التهاب في الرئتين مما يؤدي إلى ظهور الأعراض العامة للإصابة بالتهاب الرئتين من سعال وغيره . وهناك نوع آخر يسمى *Kl. edwardsii* ويصيب مواقع مختلفة في الجهاز التنفسي محدثاً التهاباً في ذلك الموقع . وكذلك الحال بالنسبة لـ *Kl. ozaenae* حيث يصيب الجهاز التنفسي كذلك .

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

1. يجب جمع العينات من المواقع المشتبه بإصابتها مثل البول ومسحات من الجروح والحروق أو البلغم في أوعية معقمة وتحت ظروف معقمة .
2. أخذ الصفات الشكلية مثل تفاعلها مع صبغة جرام وشكلها وترتيبها وحركتها وغيرها . حيث تظهر سالبة لصبغة جرام وغير متحركة وتحتوي على محفظة وعصوية .
3. الزراعة على وسط MacConkey's ومشاهدة المستعمرات النامية حيث تظهر مستعمرات Klebsiella كبيرة ووردية مخاطية بسبب احتوائها على المحفظه (Capsule) .
4. يمكن حقنها في أنابيب سكريات ومعرفة مَنْ مِنْ السكريات تخمر بوساطتها ومن لا تخمر .

جدول رقم (9)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Motility	d	−	+	−	+	+	−	−	−	−	−	−	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in KCN medium	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
Growth on 4 % selenite	+	+	+	−	+	d	+	+	−	·	+	+	+	·	·
Citrate as C source	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
Malonate	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	d
Carbohydrates:															
gas from glucose	+	−	+	−	−	−	−	−	−	d	−	−	+	+	+
acid from:															
adonitol	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	d
arabinose	+	+	−	+	+	+	−	d	+	d	+	+	+	+	+
dulcitol	d	d	−	−	−	−	·	−	−	(d)	−	−	[illegible]	d	d
lactose	+	d	−	−	−	−	−	−	−	−	−	(−)	(d)	(d)	+
maltose	+	+	+	+	+	+	−	d	d	d	[illegible]	+	+	+	·
mannitol	+	+	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+
rhamnose	d	d	−	(+)	+	−	−	d	−	−	−	d	+	+	+
salicin	d	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	d	+	+
sorbitol	d	d	−	−	−	+	−	d	d	d	d	−	+	+	+
sucrose	d	d	−	−	−	+	−	−	−	−	−	(+)	d	d	−
trehalose	+	·	−	+	+	+	+	+	d	(+)	+	+	+	+	·
xylose	d	d	−	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−	+	+	·
ONPG	+	d	−	+	+	+	+	d	−	−	−	+	+	+	·
Aesculin hydrolysis	d	·	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
Indole	+	+	+	−	−	d	−	d	d	−	d	−	−	+	+
Urease	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	w	+
H_2S from TSI	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Arginine dihydrolase	d	d	−	−	−	−	−	−	−	d	d	−	d	d	+
Lysine decarboxylase	+	d	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Ornithine decarboxylase	d	d	+	−	−	+	−	−	−	−	−	+	d	+	+

1 Escherichia coli
2 A–D group; Alkalescens–dispar group; Escherichia group
3 Edwardsiella tarda; Asakusa group; Bartholomew group
4 Yersinia pestis; *Pasteurella pestis*; the plague bacillus
5 Yersinia pseudotuberculosis; *Pasteurella pseudotuberculosis*; *P. rodentium*
6 Yersinia enterocolitica; Pasteurella X
7 Shigella dysenteriae (serotype) 1; *Shigella shigae*; Shiga's bacillus
8 Shigella dysenteriae 2–10; (2 = *S. schmitzii*; *S. ambigua*; Schmitz's bacillus); Large-Sach's group
9 Shigella flexneri (serotypes) 1–5; Flexner dysentery bacilli
10 Shigella flexneri 6; Boyd 88; Newcastle bacillus; Manchester bacillus (see Table 7.9*c*)
11 Shigella boydii (serotypes) 1–15; Boyd's dysentery bacilli
12 Shigella sonnei
13 Citrobacter freundii; *Escherichia freundii*; *Salmonella coli*; *S. ballerup*; *S. hormaechei*; Bethesda–Ballerup group
14 Citrobacter koseri; *C. diversus*
15 Levinea spp.

Proteus

هناك عدة أنواع من هذا الجنس أهمها :

1. *Proteus vulgaris* .
2. *Proteus mirasbilis* .
3. *Proteus morganii* .

تنتشر أنواع هذا الجنس بشكل واسع في بيئة الإنسان ، ويمكن مشـاهدتها في ميـاه المجاري والتربة وعلى خضار البساتين والحدائق . وتوجد كذلك في بـراز الحيوانـات الراقيـة والإنسان .

الشكل Morphology :

عصوية (bacilli) g - ve ، متحركة ، (Motile) ، حيـث تحتـوي على عـدد كبير مـن الأسواط المحيطية تسمى (Peritrichous flagella) ، غير محتوية على محفظـة ولا تحتـوي على أبواغ .

الصفات الزراعية .Cultural char

درجة الحرارة المثلى هي 37° م هوائيـة ولا هوائية اختياريـة ، تظهـر رائحـة قويـة تشبه رائحة المني .

تظهر هذه البكتيريـا مسـتعمرات منفـردة (Discrete) فقـط في مراحـل الحضانـة البدائية ، وبعد ذلك يتكون سـطح رقيـق مـن النمـو سـرعان مـا يتمـدد حتـى يغطـي جميـع المساحة المتوفرة من سطح الوسط ، وهذا ما يسمى بـ (Swarming) الانتشـارية، وهـذه الظاهرة تكون بسبب نشاط الحركة عند البكتيريا .

Biochem .Char الصفات الكيميائية الحيوية

لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 11 .

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Motility	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pigment	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−
Growth in KCN medium	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	+	+	+	+	+
Citrate as C source	−	d	d	(+)	+	+	+	+	+	−	d	(+)	+	+	+
Gluconate	.	.	.	.	.	.	.	.	d	−	−	d	−	−	−
Malonate	−	−	−	−	−	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−
Carbohydrates:															
gas from glucose	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−
acid from:															
adonitol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−
arabinose	−	+	+	−	+	+	+	+	+	−	.	−	−	−	−
dulcitol	(d)	−	+	(d)	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
glycerol	(w)	−	(+)	−	(d)	.	.	.	d	(d)	(+)	+	(+)	(d)	(+)
inositol	−	−	−	−	d	.	−	.	d	−	−	−	+	−	+
lactose	−	−	−	−	−	−	+ (x)	−	d	−	−	.	−	−	−
maltose	+	(d)	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−
mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	.	+	−	−
rhamnose	−	+	(+)	+	+	+	+	+	+	−	−	−	d	−	−
salicin	−	−	−	−	−	−	−	+	d	−	d	(d)	d	−	−
sucrose	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	(+)	d	(d)	(+)
trehalose	+	+	+	−	+	+	+	+	+	d	(+)	+	d	.	d
xylose	d	+	+	+	+	+	+	+	+	−	d	+	d	−	−
ONPG	−	−	−	−	−	−/w	+	−	+	−	−	−	−	−	−
VP test	−	−	−	−	−	−	−	−	.	−	−	d[a]	−	−	−
Aesculin hydrolysis	.	.	.	−	.	.	.	.	d	−	d	.	d	−	−
Indole	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	+	+
Gelatin hydrolysis	−	−	−	−	−	(+)	(+)	(+)	+	−	+	+	−	−	−
Urease	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−	−
H_2S from TSI	+	.	.	d	+	+	+	+	−	−	+	+	−	−	−
Arginine dihydrolase	(d)	+	(+)	(+)	(+)	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
Ornithine decarboxylase	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−
Phenylalanine	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+

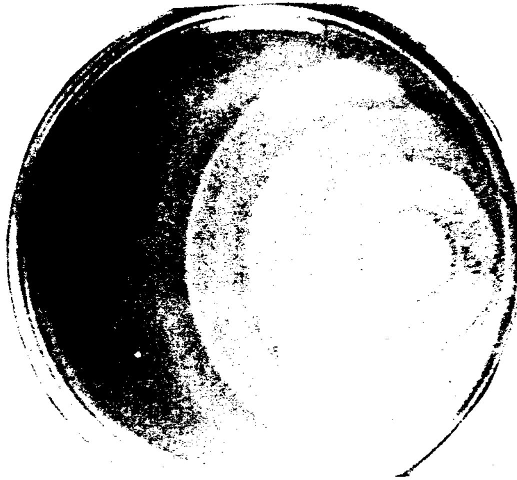
16 **Salmonella typhi**
17 **Salmonella pullorum**
18 **Salmonella gallinarum**
19 **Salmonella choleraesuis**
20 **Salmonella kauffmannii**; *S. enterica*; *S. enteritidis* serotype (bioser) xyz; Salmonella subgenus I
21 **Salmonella salamae**; *S. dar-es-salaam*; Salmonella subgenus II
22 **Salmonella arizonae**; Salmonella subgenus III; *Arizona arizonae*; *A. hinshawii*
23 **Salmonella houtenae**; Salmonella subgenus IV
24 **Erwinia herbicola**; *Bacterium typhi flavum*; *Enterobacter agglomerans*
25 **Morganella morganii**; *Proteus morganii*; Morgan's no. 1 bacillus
26 **Proteus vulgaris**; *Proteus hauseri* (part of)
27 **Proteus mirabilis**; *P. hauseri* (part of)
28 **Proteus rettgeri**; *Rettgerella rettgeri*
29 **Proteus inconstans**; *Proteus providenciae*; *Providencia providenciae*; *Providencia alcalifaciens*; *Proteus inconstans* A
30 **Proteus stuartii**; *Proteus inconstans* B; *Proteus providenciae* B; *Providencia stuartii*

[a] More strains are positive at 22 °C than at 37 °C.

جدول رقم (11)

الإصابة Pathogenicity :

وتسبب هذه البكتيريا التهابات ثانوية حيث تعتبر هذه الالتهاب من مصدر داخلي (Endogenous source) ومثال ذلك التهاب المسالك البولية حيث تنتقل البكتيريا من الأمعاء الغليظة إلى المسالك البولية عبر مجرى الدم أو الأوعية اللمفاوية . أو قد يكون مصدر الالتهاب خارجياً حيث يتلوثنهالإحليل بالبراز المحتوي على هذه البكتيريا كساكن طبيعي وبذلك يسبب التهاباً في المسالك البولية .



ظاهرة الانتشار لـ *P. mirabilis*

التشخيص المخبري (*Lab. diagnosis*)

1. جمع عينات البول والمسحات من مواقع الإصابة المختلفة .
2. عمل التحضيرات اللازمة لدراسة الصفات الشكلية مثل التفاعل مع صبغة جرام والحركة والشكل والترتيب وغيرها .
3. الزراعة على وسط MacConkey's حيث تظهر مستعمرات شفافة لأنها لا تخمر اللاكتوز ويظهر النمو على شكل انتشار بسبب نشاط الحركة الزائدة .
4. عمل التفاعلات الكيميائية الحيوية ومقارنتها بالجدول رقم (11) .

Pseudomonas aeruginosa

الشكل Morphology

عصوية (bacilli) ,g-ve ، لا تحتوي على أبواغ، وهي متحركـة بنشـاط وتحتـوي على أسواط قطبية (Polar flagella) ، حيث نـادراً مـا تكـون أكـثر مـن ثلاثـة، وهـي لا تحتوي على محفظة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هـي بكتيريـا هوائيـة في الأصـل إلا أن بعـض الأنـواع منهـا تعيـش بضعـف تحـت الظروف

اللاهوائية .

مدى درجة الحرارة من 5–43 درجة مئوية والدرجة المثلى هي 37°م تنمـو على أوساط عادية حيث تعطي رائحة العفن (Musty odour) . وعلى الـ Nutrient agar تظهر هذه البكتيريا نمواً رطباً أزرق مخضراً ، وأما صفات المستعمرات فهي منفـردة وتكـون كبيرة ، محدبة وتحتوي على حافة غير منتظمة وشفافة بالمقارنة مع المركز الرمادي الداكن .

	1	2	3	4	5	6	7	8
Acid from:								
glucose	+	+	+	−	+	+	+	+
fructose	+	+	+	−	+	+	+	+
lactose	−	d	−	−	+	+	−	+
maltose	−	+	−	−	+	+	+	+
mannitol	+	d	−	−	+	−	d	+
salicin	−	−	−	.	+	d	−	+
sucrose	−	d	−	.	d	+	−	−
xylose	+	+	+	−	+	d	+	+

1 Pseudomonas aeruginosa
2 Pseudomonas fluorescens
3 Pseudomonas putida
4 Pseudomonas diminuta
5 Pseudomonas cepacia
6 Pseudomonas maltophilia
7 Pseudomonas stutzeri
8 Pseudomonas pseudomallei

جدول رقم (12)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+
Oxidase	+	+	+	+	+	d	+	+	d	+
PHB accumulation in cells	−	−	−	+	+	−	−	+	+	+
Pigment	+[a]	+[b]	.	+[c]	d[d]	+[c]	.	+[c]	−	−
Fluorescence in u.v. light	+	+	+	−	−	−	−	−	−	.
Growth at 5 °C	−	+	d	−	−	−	d	−	−	.
Growth at 42 °C	+	−	−	−	d	−	d	+	−	.
Growth on MacConkey	+	+	+	+	+	+	+	+	−	.
Growth in KCN	+	d	−	.	−	+	−	+	d	.
Utilization of citrate as C source	+	+	+	−	+	−[e]	+	+	−	+
Carbohydrates,[f] acid from:										
glucose	+	+	+	−	+	(w)[g]	+	+	+	+
lactose	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−
maltose	−	−	d	−	+	+	d	+	d	−
mannitol	+	+	d	−	+	−	d	+	+	−
salicin	−	−	.	.	+	−	−	−	−	−
sucrose	−	d	−	−	+	−	−	+	d	−
xylose	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+
Starch hydrolysis	−	−	−	−	−	−	+	d	−	−
Nitrate reduced to nitrite	+	d	d	−	d	+[h]	+	+	+	+
Nitrite reduced to N gas	d	−	−	−	−	−	+	d	−	+
Gelatin hydrolysis	+	+	−	+	+	+	−	+	d	−
Casein hydrolysis	+	+	−	+	+	+	−	+	.	.
Urease	+	d	d	−	+	−	(d)	d	d	.
Arginine dihydrolase	+	+	+	−	−	−	d	+	+	−
Lysine decarboxylase	−	−	−	−	+[j]	+	−	−	−	.
Ornithine decarboxylase	−	−	−	−	d	−	−	−	−	.
Egg-yolk reaction	−	d	−	−	+	−	+	+	d	−
Tween 80 hydrolysis	+	d	−	−	+	−	+	+	d	+

1 **Pseudomonas aeruginosa**; *P. pyocyanea*
2 **Pseudomonas fluorescens**
3 **Pseudomonas putida**
4 **Pseudomonas diminuta**
5 **Pseudomonas cepacia**; *P. multivorans*; *P. kingii*
6 **Pseudomonas maltophilia**
7 **Pseudomonas stutzeri**
8 **Pseudomonas pseudomallei**; *Loefflerella pseudomallei*; *L. whitmor(e)i*; *Pfeifferella whitmori*; *Malleomyces pseudomallei*
9 **Pseudomonas mallei**; *Loefflerella mallei*; *Pfeifferella mallei*; *Malleomyces mallei*
10 **Pseudomonas pickettii**

PHB Poly-β-hydroxybutyrate.
[a] Pyocyanin.
[b] Fluorescin.
[c] Yellow.
[d] Positive on Kligler's iron agar and TSI.
[e] Positive on Christensen's citrate medium and in BSS tests.
[f] Hugh & Leifson base (A 2.6.1) + 1 % sugar; ASS sugars (Section A 2.6.5).
[g] Weak on H & L medium; negative on ASS.
[h] Cannot use nitrate as N source.
[j] Positive by Richard's method; d by Møller's method.

جدول رقم (13) أ

وعلى الـ .E.M.B والـ MacConkey's فـإن صفـات المسـتعمرات تشـبه الـتي تنمو على الـ Nutrient agar ، إلا أن لون المستعمرات يبقى شاحباً طالمًا أن البكتيريـا لا تخمر اللاكتوز .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char :

تنتج الحامض من دون غاز مع الجلوكوز، وتجعل الجيلاتين سائلاً وبسرعة ، وتعطي نتيجـة سـلبية مـع الــ Indole ، وتجربـة الــ .V.P ، وتعطـي نتيجـة إيجابيـة مـع تجربـة الــ Oxidase . ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 12 و 13 أ

الإصابة Pathogenicity :

هذه البكتيريا ساكن طبيعي للامعاء ولذلك يمكن عزلها مـن مياه المجاري، وتوجد كذلك على جلد الإنسان الطبيعـي . ويمكـن أن تسـبب التهابـاً في القنـاة البوليـة والجـروح والحروق ويمكن لها ان تسبب التهاباً في الأذن الوسطى (Otitis media) .



شكل عام لمعظم البكتيريا المعوية الـ Enteric bacteria

	1	2	3	4	5	6	7
Motility	+	+	+	+	–	–	–
Pigmentation	+[a]	–	–	–	+[b]	+[b]	+[b]
Growth at 42 °C	–	+	+	+	–	–	+
Growth on SS agar	.	+	+	+	–	–	–
Growth on MacConkey agar	d	+	+	+	+	+	–
KCN (growth on)	–	+	+	–	–	.	.
Citrate as C source	+	+	+	+	–	–	–
Carbohydrates [in peptone media], acid from:							
glucose	–[c]	–	–	–	(+)	–[c]	–
lactose	–	–	–	–	–[d]	–	–
sucrose	–[c]	–	–	.	–	–	–
xylose	–[c]	–	–	.	–	–	–
Aesculin hydrolysis	+	–	–	–	+	+	.
Nitrate reduced	+[e]	d	+	+[e]	–	–	.
Indole	–	–	–	–	+	+	+
Gelatin liquefaction	(+)	–	–	.	+	+	+
Urease	–	–	+	–	–	–	.

1 **Chromobacterium lividum**
2 **Alcaligenes faecalis**
3 **Alcaligenes bronchisepticus**; *Bordetella bronchiseptica*; *Haemophilus bronchisepticus*
4 **Alcaligenes odorans**; *A. odorans* var. *viridans*
5 **Flavobacterium meningosepticum**; Pickett's group I
6 **Flavobacterium**, Pickett's group II
7 **Flavobacterium**, Pickett's group III

[a] Violet pigment.
[b] Yellow pigment.
[c] Positive in open tube of OF medium (Section A 2.6.1) = oxidative.
[d] Positive in ONPG test (Lapage *et al.* 1973).
[e] Gas detected, indicating further breakdown of nitrite.

جدول رقم (13) ب

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

1. جمع العينات تحت ظروف معقمه وبأدوات معقمة مثل البول ومسحات من الأذن ومسحات من الجروح والحروق .
2. دراسة الصفات الشكلية للبكتيريا المسببه ويفضل بعد الزراعة والعزل حيث تظهر عصوية وسالبة لصبغة جرام ومتحركة .
3. الزراعة على MacConkey's وعلى Nutrient Agar حيث تظهر مستعمرات شفافة على الوسط الاول لأنها لا تخمر اللاكتوز وتنتج في الوسط صبغه خضراء مزرقة تظهر جلية في الوسط الثاني .
4. إجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية ومقارنتها بالجدول رقم (12) وعمل فحص الـ Oxidase حيث تعطي معه نتيجة إيجابية .
5. يمكن استخدام تقنية النقاط المتعددة Multipoint technique المعتمدة على الصفات الكيميائية الحيوية حيث يتوفر فيها 7 فحوصات أو استخدام نظام API ذي العشرة فحوصات أو العشرين فحصاً ، الموضحة في الوحدة التاسعة .

Providencia

تتصف هذه البكتيريا بأنها عصوية Bacilli ، متحركة ، g - ve تنمو على الأوساط EMB و MacConkey's و S.S.agar و Bismuth sulfite agar ويمكن عزلها من البراز.تعطي نتيجة إيجابية مع فحص الأندول وفحص .M.R وفحص Citrate وفحص اليوريا (النوع *P. rettgeri*) وفحص الـ phenylalanine وتخمر الجلوكوز منتجة حامضاً بدون غاز ما عدا النوع *P. alcalifaciens* وتعطي نتائج سلبية مع فحص .V.P وفي إنتاج H_2S وفحص Lysine decaroxylase وفحص Arginine dihydrolase وفحص Ornithine decarboxylase وفحص إسالة الجلاتين ولا تخمر اللاكتوز غالباً ولا الـ Dulcitol ولا الـ Sorbitol ولا الـ Arabinose ولا الـ Xylose ولا الـ Rhamnose ولا تنتج Dnase وتعطي نتيجة سلبية مع ONPG . وتشبه الـ Shigella في تفاعلها مع .T.S.I ولكن يمكن تمييزها بالتفاعلات الكيميائية الحيوية والحركة ولا تعطي ظاهرة الانتشار على سطح الوسط الصلب . ويمكن الاستفادة من الجدول رقم 11 لمعلومات إضافية .

Enterobacter

Species

1. *E. cloacae*
2. *E. aerogenes*
3. *E. hafniae*
4. *E. agglomerans.*

تصنف هذه البكتيريا بأنها عصوية **g -ve (Bacilli)** ، متحركة وتظهر نمواً مخاطياً بنسبة أقل من عصيات الـ **Coli - from** الأخرى ، مثل **Klebsiella** ، ويمكن عزلها من البراز . ولمزيد من التفاصيل ينظر الجدول رقم 10 .

Alkaligenes faecalis

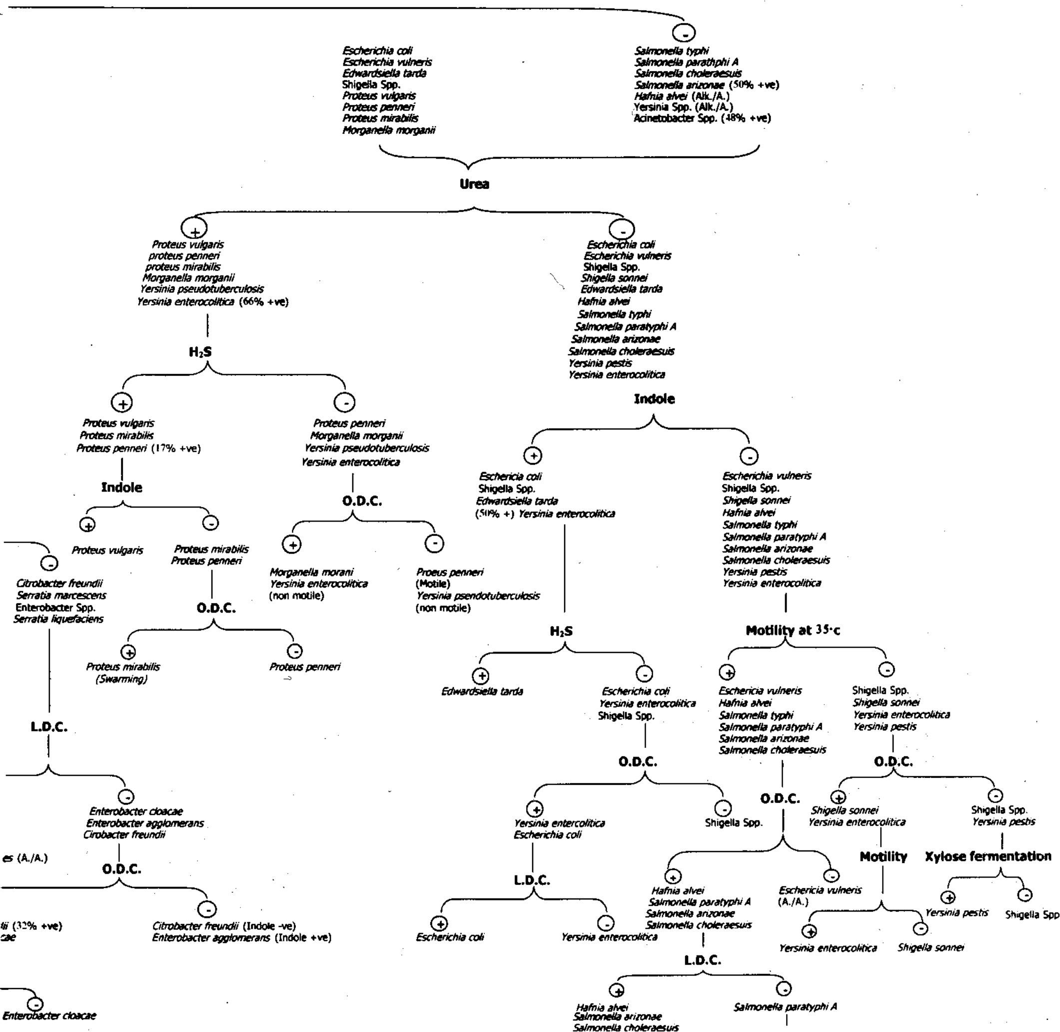
تتميز هذه البكتيريا بأنها **g-ve** عصوية **Bacilli** متحركة ، تعطي نتيجة إيجابية مع تجربة الـ **Oxidase** ، ونتيجة إيجابية مع تجربة **Phenylalanine deaminase test** وتنمو على **MacConkey's** ولكن ليس على **S. S. Agar** . لاتخمر اللاكتوز ولا الجلوكوز ، ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم (13) ب .

Bacteroides

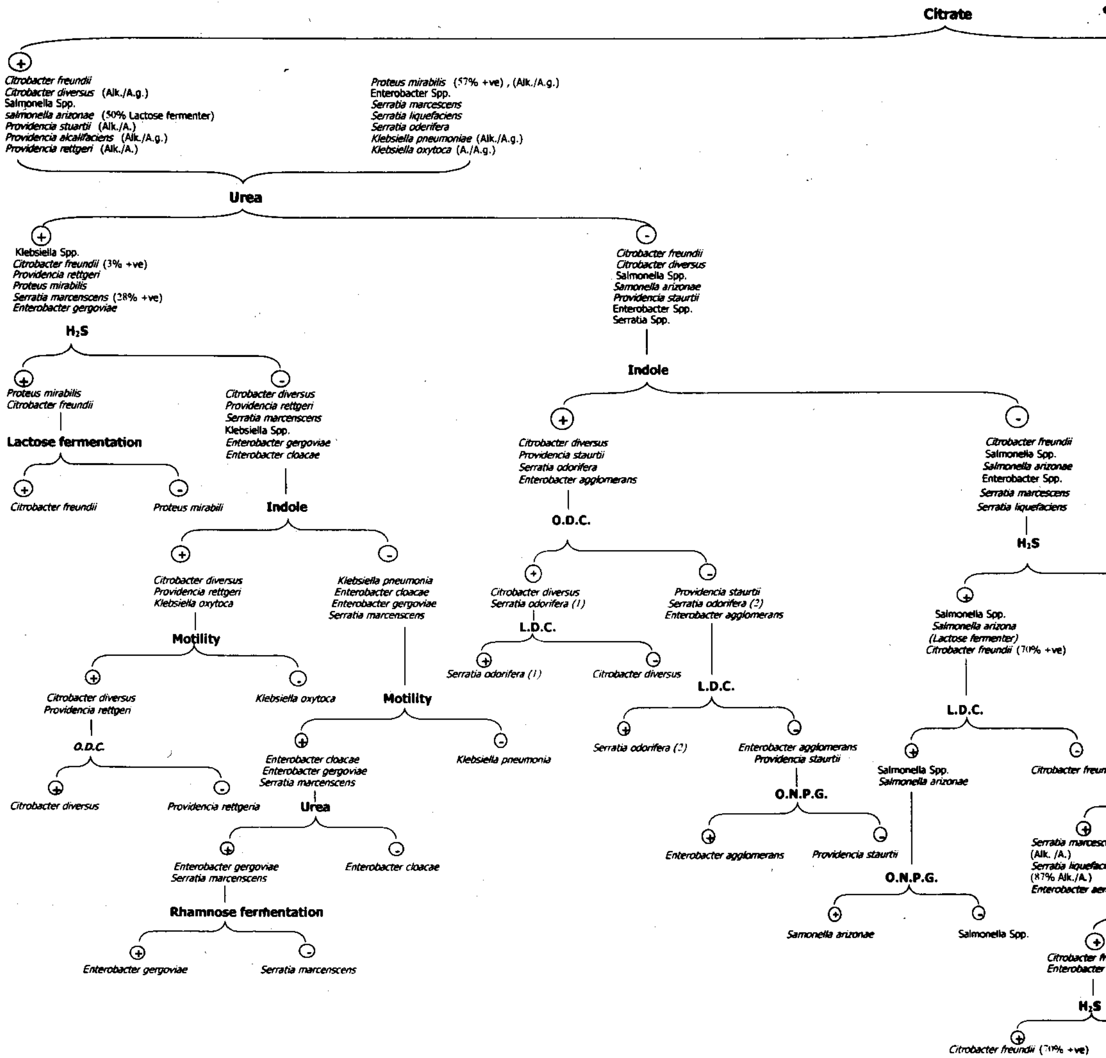
B. fragillis ، لا هوائية ، **g - v** ، عصوية **Bacilli** ، ونهاياتها دائرية . وتعطي نتائج متغايرة مع الـ **Catalase** و **Indole test** ، وتحتاج إلى الدم للنمو .

تتصف المستعمرات على الـ **Blood ager** بأنها صغيرة ناعمة، بيضاء إلى رمادية ، لا تسبب أي تحلل للخلايا الحمراء ، وتكون شفافة .

terobacteriaceae



Biochemical Identification Of E



B. melaninogenicus ، لا هوائية ، ويمكن تنميتها على الـ Blood agar حيث تظهر المستعمرات بلون بني إلى داكن ويحدث ذلك بعد 5–7 أيام من الحضانة ، g-ve Coccobailli ساكن طبيعي في الفم .

Citrobacter

كانت هذه البكتيريا تسمى بـ *Enterobacter freundii* ، وتتصف هذه البكتيريا بأنها g-ve ، متحركة ، عصوية Bacilli ، وتخمر اللاكتوز والمانيتول والجلوكوز منتجة حامضاً مع غاز فقط في حالة الجلوكوز .

تشبه في صفاتها الكيميائية الحيوية صفات كل من السالمونيلا Salmonella والأريزونا Arizona ، وقد عزلت هذه البكتيريا من حالات التهاب الأمعاء Enteritis ، ولكن لا تعتبر من ناحية عامة بأنها ضارة . وتتبع في التصنيف إلى عائلة Enterobacteriaceae . وهي ساكن طبيعي في الأمعاء ويمكن عزلها من البراز ويمكن تمييزها عن (الـ*E. coli*) بوساطة فحص Citrate حيث تعطي الأخيرة نتيجة سلبية ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 9.

والمخطط التالي يوضح تسلسل خطوات تشخيص أعضاء العائلة المعوية Enterobacteriaceae .

Salmonella

يتبع هذا الجنس (genus) للعائلة Enterobacteriaceae ، ويحتوي على الأنواع species التالية :

Salmonella typhi

S. paratyphi A

S. paratyphi B

S. tyhimurium

S. enteritidis

يوجد حوالي ألف نوع مصلي (Serotypes) من هذه الأنواع مختلفة من الناحية المصلية تابعة لهذا الجنس .

(*S. typhi*) هي المسبب لحمى التيفوئيد ، تشبه حمى الباراتيفوئيد حمى التيفوئيد إلى حد بعيد وتسبب الباراتيفوئيد بوساطة النوع A ، B ، C .

إن مصطلح الحمى المعوية (Enteric fever) ، يشتمل على حمى التيفوئيد والباراتيفوئيد معاً .

S. typhi

الشكل Morphology :

g - ve ، غير محتوية على أبواغ ، عصيات متحركة بنشاط ، وتحتوي على أعداد كبيرة من الأسواط المحيطة (Peritrichious flagolla) ، ولا تحتوي على محفظة .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char

تخمر هذه البكتيريا الجلوكوز والمانيتول منتجة حامضاً من دون غاز ولا تخمر اللاكتوز ولا السكروز ولا تنتج الأندول (Indole) ، ولمزيدمن التفاصيل ينظر جدول رقم 11 .

التركيب الأنتيجيني Antigenic structure

يحتوي مصل الحيوانات المطعمة بعصيات التيفوئيد *Salmonella typhi* على أجسام مضادة مخثرة(Aggultinating antibodies) ، والتي تكون متخصصة في تشخيص هذا الأنتجين ، وتحتوي هذه البكتيريا على نوعين من الأنتجين هما : الأنتجين الجسدي (Somatic "O" antigen) ، والثاني هو الأنتجين السوطي (Flagellar "H" antigen) ، ولذلك فان تفاعلات التخثر يمكن استخدامها للتحقق من أنتيجينات هذا النوع (Species) .

ولقد تم عزل أنتجين آخر اسمه (Vi- antigen) من النمو الطازج (Fresh culture) من بعض أنواع الـ *S. typhi* ، ويظهر هذا الأنتجين على السطح العلوي للبكتيريا ، ومثل هذه الأنتيجينات تكون ضارة للفئران .

الإصابة Pathogenicity :

1. الحمى المعوية (Enteric fever) : وتحدث الإصابة نتيجة لتناول الطعام الملوث ببكتيريا Salmonella . وتنتقل البكتيريا من الأمعاء إلى الأوعية اللمفاوية المعوية ، وبعد ذلك تنتقل بوساطة القنوات الصدرية إلى مجرى الدم ، وبعد ذلك تنتشر إلى أعضاء كثيرة مثل الكلية والأمعاء ، حيث تتكاثر الجراثيم في الأنسجة اللمفاوية، وتخرج بعد ذلك

مع البراز ، وكنتيجة للتكاثر الجرثومي فإنه يحدث موت موضعي في النسيج Necrosis اللمفاوي. وفي النهاية تتكون قرحة والتهاب في المرارة (Inflammation of gallbladder) .

2. (Gastroenteritis): وعادة تكون بسبب الإصابة بـ *S. typhimurium* و *S.* enteritids حيث لا يحدث غزو لمجرى الدم ، ويمكن حدوث مضاعفات مثل التهاب الأنسجة الضامة التي تكسو العظام (Periostitis) ، والتهاب العظام (Osteitis) أو (Osteomylitis) وتقرح الكلية Abscess of the kidney ، والتهاب القنوات الصفراوية والمرارة (Cholecystitis) ، والتهاب الرئة (Pneumonia) والتهاب غشاء القلب (Endocarditis) .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

يجب عمل زراعة للدم وفي حالة الحمى المعوية الداخلية تكون نتيجة زراعة الدم إيجابية في الأسبوع الأول من الإصابة بالمرض ، وتكون نتيجة زراعة البراز إيجابية في الأسبوع الثاني والثالث من الإصابة بالمرض . وفي حالة الإصابة بالالتهاب المعدي المعوي Gastroenteritis تكون نتيجة زراعة البراز إيجابية في الأسبوع الأول .

الطرق العملية في عزل الـ Salmonella

1. زراعة الدم Blood culture

تستعمل قناني زراعة الدم (Blood culture bottles) والتي تحتوي على أملاح الصفراء Bile salts حيث تكون النسبة (0.5% Na - taurocholate) ، وتتلخص العملية بوضع الدم المتجلط في القنينة ، ويضاف إليها 15 مللتراً من (0.5% Bile salt broth) محتوياً 100 وحدة / مللتر من أنزيم (Streptokinase) لتحليل الجلطة . أو إضافة مانع للتجلط في القنينة وإضافة عينة الدم إلى القنينة قبل أن تتجلط .

ضع في الحاضنة على درجة 37م لمدة 24 ساعة ، فإذا كانت النتيجة إيجابية يمكن عزل البكتيريا النامية وفحصها زراعياً وكيميائياً وشكلياً ومصلياً .

يمكن استعمال أوساط **DCA (Deoxycholate citrate agar)** حيث تتصف المستعمرات بلونها الشاحب أو يمكن استعمال أوساط **MacConkey's** ثم تنقل إلى **T.S.I. (Triple sugar iron)** .

• **تفاعل البكتيريا في الوسط .T.S.I**

يكون الوسط مصبوباً في أنابيب وتتصلب وهي في وضع مائل حيث ينتج سطح **Slant** وقاع **Butt** .

عند حقن البكتيريا في الوسط بطريقة الطعن **Stabbing** وحضنها لليوم التالي في الحاضنة فإنه سيظهر واحدٌ من الاحتمالات التالية :

أ- السطح **Slant** قاعدي التفاعل (أحمر اللون) والقاع **Butt** حامضي التفاعل (أصفر اللون) **ALK/ A.** وتفسير ذلك أن البكتيريا قد خمرت سكر الجلوكوز والموجود في الوسط إلا أنه لوجود كمية كبيرة من الأكسجين على السطح وقلة كمية الجلوكوز فيه حصل تأكسد سريع للحامض القليل الناتج وانقلب إلى قاعدة ، أو لم يتكون الحامض ، بينما في القاع قلة الأكسجين وزيادة كمية الجلوكوز وبالتالي كثرة الحامض الناتج في القاع مكنه من إبقاء التفاعل حامضياً .

- ظهور الغاز في القاع دلاله على تخمر الجلوكوز وإنتاج الحامض والغاز
- وظهور اللون الأسود مؤشر على إنتاج كبريتيد الهيدروجين . يتغير لون الكاشف **phenol red** إلى اللون الاصفر عند تغير الـ **PH** .

ب- السطح حامضي والقاع حامضي **A./A.**

وتفسير ذلك تخمير البكتيريا للجلوكوز و / أو اللاكتوز و/أو السكروز .

جـ – السطح قاعدي والقاع قاعدي .ALK./ALK

تعني عدم تخمير البكتيريا لأي سكر من السكريات الثلاثة .

2. زراعة البراز Stool culture :

ضع العينة في (Selenite broth) أو (Tetrathionate) لمدة 24 ساعة تحت درجة 37 مئوية ، وهما قاتلتان للبكتيريا الطبيعية الموجودة في الأمعاء . انقل سعة (Loop) إلى أوساط صلبة وشخص المستعمرات النامية .

هذه الطريقة أفضل من طريقة الزراعة المباشرة ، لأننا نتجنب النمو الكثيف للبكتيريا فوق نمو (Salmonalla) .

يمكن استعمال (Bismuth suifite media) والتي تسمح بالتشخيص السريع للـ *S. typhi* حيث تعطي مستعمرات سوداء بسبب إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين (H2S) .

3. زراعة البول Urine culture :

رسب العينة على جهاز الطرد المركزي وازرع الراسب على الأوساط المناسبة وتفحص المستعمرات النامية .

SHIGELLA

تنتمي هذه البكتيريا للعائلة (Enterobacteriaceae) ، ويتبع لهذا الجنس أنواع هي :

1. *Shigella dysenteriae*
2. *Sh. Sonnei*
3. *Sh. flexneri*
4. *Sh. boydii*

يسبب أعضاء هذا الجنس الإصابة بالديزنطاريا (الزحار) العصوية الحادة (Acute bacillary dysentery) ، المرض الذي ينتشر بكثرة في معظم أنحاء العالم . وأكثر حالات الحدة تعزى في الغالب إلى الإصابة بـ *Sh. dysenteriae* . أما *Sh. boydii* ، فإنها تسبب إصابة معتدلة ، أما الإصابة بـ *Sh. flexneri* و *Sh. boydii* ، فإنها أكثر حدة من الإصابة بـ *Sh. sonnei* .

الشكل Morphology

مشابهة في الشكل لـ *S. typhi* باستثناء عدم احتوائها على الأسواط ، ولذلك فإنها غير متحركة .

الصفات الزراعية .Cultural char

تشبه صفات الـ Salmonella إلى حد بعيد باستثناء الـ *Sh. sonnei* حيث تخمر اللاكتوز بعد فترة طويلة من الحضانة ، ولذلك فإن المستعمرات على الـ MacConkey's والـ DCA يمكن أن تتلون باللون الزهري عندما تطول مدة الحضانة أكثر من 24 ساعة .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char :

ينظر جدول 9 و 14 ب

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Motility	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+
Swarming surface growth	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Growth at 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−
Growth at pH 9	+	+	+	+	.	−	d	−	.	.
Growth without NaCl	−	−	−	−	−	+	+	+	.	.
Growth in 6 % NaCl	−	−	−	+	+	−	−	−	−	.
Growth in KCN medium	d	d	d	+	.	+	−	−	+	d
Citrate as C source	+	+	+	+	+	+	−	−	d	+
Gluconate	d	+	d	−	.	d	−	−	−	−
Glucose, gas from	−	−	−	−	−	d	−	w/−	−	−
Carbohydrates, acid from:										
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−[a]
lactose	(+)	(+)	(+)	−	−	d	(+)	−	−	−
sucrose	+	+	+	−	+	+	−	d	d	−[a]
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	−	d
VP	−	+	d	−	+	d	−	−	−	−
Indole	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	−	+	+	(+)
Casein hydrolysis	+	+	+	+	.	+	−	.	+	−
Arginine hydrolysis	−	−	−	−	−	+	d	+	+	−
Chitin hydrolysis	d	d	d	+	+	−	.	.	+	−

1 **Vibrio cholerae**; *V. comma*; cholera vibrio
2 **Vibrio cholerae var. eltor**; *V. eltor*; el Tor vibrio
3 **Vibrio spp.**; NCV (non-cholera vibrio); NAG (non-agglutinating vibrio); water vibrio
4 **Vibrio parahaemolyticus**; *Oceanomonas parahaemolytica*; *Beneckea parahaemolytica*
5 **Vibrio alginolyticus**; *Oceanomonas alginolytica*
6 **Aeromonas hydrophila**; *A. liquefaciens*; *A. punctata*; *A. formicans*
7 **Plesiomonas shigelloides**; C 27; *Aeromonas shigelloides; Vibrio shigelloides*; *Fergusonia shigelloides*; *Pseudomonas michigani*
8 **Necromonas salmonicida**; *Aeromonas salmonicida*
9 **Chromobacterium violaceum**
10 **Chromobacterium lividum**

[a] Positive in ASS (Section A 2.6.5).

جدول رقم (14 أ)

	1	2	3	4
Glucose (acid)	+	+	+	+
(gas)	−	d	+	−
Mannitol (acid)	+	−	+	+
Dulcitol (acid)	(d)	(d)	(d)	−
Indole	−	−	−	d

1 **Shigella flexneri** 6; Boyd 88 biotype
2 **Shigella flexneri** 6; Newcastle biotype; *S. newcastle*
3 **Shigella flexneri** 6; Manchester biotype; Denton strains (Downie *et al.* 1933)
4 **Shigella flexneri** serotypes 1–5

جدول رقم (14ب)

الإصابة Pathogenicity :

تحدث الإصابة نتيجة لابتلاع الجراثيم ووصولها إلى الأمعاء الغليظة ، حيث تبدأ بالتكاثر وينتج عن ذلك التهاب الغشاء المخاطي والذي بدوره يتطور إلى قرحة (Ulcer) في الحالات الحادة . وتكمن ردة الفعل الخلوية في ارتفاع عدد الخلايا البيضاء عديدة تشكل النواة (Polymorphonuclear leukocytes) . ومن النادر أن تغزو هذه العصيات أنسجة أخرى . ولم يعط أي تقرير عن حدوث حالة وجودها في الدم (Bacteraemia) إلا في حالات نادرة . وبعد الشفاء سريرياً من المحتمل أن يخرج المريض هذه البكتيريا مع برازه لعدة أسابيع ، وبعض المرضى يصبحون حاملين للمرض بشكل دائم.

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis) :

1. يمكن جمع عينة البراز ، وكذلك مسحات المستقيم (Rectal swab) للكشف عن الإصابة واستعمال البراز أفضل من مسحات المستقيم أو المسحات الشرجية .

يمكن عمل تحضير مباشر مع محلول الملح (saline) من البراز من الجزء المحتوي على المخاط من العينة حيث سيظهر عدد كبير من الخلايا البيضاء عديدة تشكل النواة . وعدد مختلف من الخلايا الحمراء وأعداد كبيرة من الخلايا الطلائية خاصة في المراحل المبكرة .

2. ويمكن زراعة معلق براز (Stool suspension) في (Selenite broth) ، وإذا حصل نمو ينقل الأخير إلى DCA و MacCnkey's و EMB ، وفحص صفات المستعمرات كما وردت سابقاً .

وقد أفاد أحد البحوث العلمية المنشودة في مجلة العلوم الطبية المخبرية في شهر تموز عام 1990 بأن الأوساط الزراعية المذكورة أعلاه قد عزلت ما نسبته 55٪ من عينات

البراز المحتوية على الـ Shigella مما عزلـه الوسـط XLD (الموضـح تركيبـه في الوحـدة الثانية صفحة 41) وعزي ذلك إلى تركيز Na - desoxycholate القـاتل للبكتيريـا المعوية وغـير المؤثـر علـى الـ Shigella ويـأتي في الدرجـة الثانيـة الوسـط Hektoen Agar بعد الـ XLD في قدرته على عزل الـ Shigella .

3. الصفات الكيميائية الحيوية ، ويمكن التحقق من ذلـك بحقـن البكتيريـا الناميـة لكـل مـن الجلوكوز والسكروز والمانيتول وكذلك اللاكتوز .

4. الفحوصات المصلية Serological test : ويمكـن عمـل مزيـد مـن التقصـي والتحقـق باستخدام التفاعلات المصلية حتى تؤكد النتائج التي تحصل عليها من التجارب السابقة .

VIBRIO

تشمـل العائلة Vibrionaceae مجموعة من الأجنـاس Vibrioو Aeromonas وPlesiomonas التي تشترك في الصفـات مـع الجنـس Campylobacter في أن معظـم أعضائها +ve Oxidase وعصويـة منحنيـة ،و g - ve ، وبعـض الأنـواع مسئـول عـن الإسهالات عند الإنسان . وبعض أنواع الأجناس متحرك بسوط قطـبي . ويتواجـد أعضـاء هذه العائلة في الماء العذب وماء البحر حيث تكون مرضية للحيوانات المائية . تختلف أنواع الـ Campylobacter عن الـ Vibrio باحتياجها الأقل للأكسجين كمتطلب نمـو . وقـد شخص النوع *Helicobacter pylori* حديثاً واعتـبر مسـبباً لإلتهـاب المعـدة في الإنسـان والذي قد يؤدي إلى قرحة معدية أو سرطان معدي .

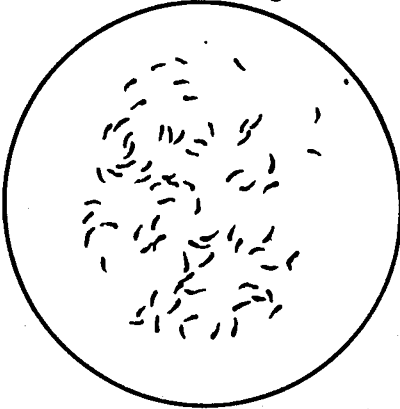
وينتمي للجنس vibrio أهم نوع وهو مسبب مرض الكوليرا *Vibrio cholera* ، أو يسمى بالعصيات الواوية Comma bacilli . وهـذا المـرض يتصـف بالتهـاب حـاد في القناة المعدية المعوية Gastroenteritis والذي يبدأ فجأة ثـم يتطـور بسـرعة ، ويمكـن أن

يؤدي إلى الموت بعد أن يعمل على جفاف المريض بسبب فقدانه للسوائل من جسمه ، كما يؤدي إلى حدوث صدمة خلال ساعات قليلة .

الشكل Morphology :

شكلها محدب أو مثل الواو بنهاية مستديرة أو مدببة ، وتصطف العصيات بشكل متوازٍ ، وتشبه نهاية السمكة في الجدول وهي متحركة بنشاط وتحتوي على سوط منفرد طرفي طويل .

هذه العصيات g - ve ، غير محتوية على أبواغ ، وتظهر في الوسط السائل منفردة أو على شكل أزواج أو على شكل سلاسل مرتبة كل نهاية مع نهاية خلية أخرى حيث تعطي تقريباً شكل اللولب (Spiral) .



ويمكن مشاهدتها على شكل الهراوة أو على أشكال غير منتظمة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ، ويظهر نمو قليل تحت الظروف اللاهوائية ، مدى درجة الحرارة من 16–40 مئوية ، والمثلى 37 م. تنمو على الأوساط العادية ولا تنمو في وجود الجو الحامضي . ولكن يظهر النمو الكثيف على أوساط قلوية . انسب (PH) لنموها هو 8.2 ، وتتصف المستعمرات على الأوساط الصلبة بأنها رطبة على شكل أقراص منتظمة ذات لون

أزرق من خلال الضوء ، وإذا زرعت على TCBS ، فإنها تعطي لوناً أصفر على خطوط الزراعة دلالة على تخميرها لسكر السكروز .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char :

تخمر هذه البكتيريا كلاً من الجلوكوز والسكروز والمنيتول منتجة حامضاً من دون غاز ولا تخمر اللاكتوز والأرابنوز (Arabinose) . ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 14 و 15 .

: Cholera - red - reaction

أضف قطرات قليلة من حامض الكبريتيك إلى نمو البكتيريا الذي عمره 24 ساعة زرع على ببتون (24hrs peptone weter culture) ، عندها سيظهر اللون الزهري المحمر بسبب تكوين (Nitrose - Indole) .

تحليل الدم Haemolysis :

الحقيقة أن الـ *V. cholera* لا تحلل كريات الدم الحمراء للماعز والخراف ، بينما EL tor vibrio تسبب تحللاً لها ، وتعطي الـ*V. cholera* لوناً أخضر عند زراعتها على (Blood agar) .

: Haemolysin test

امزج 0.5 مللتراً من نمو البكتيريا في (Heart infusion broth) . عمره 24 ساعة مع 0.5 مللتراً من 1٪ من معلق خلايا الخراف الحمراء المغسولة ، ويوضع الخليط في

الحاضنة على درجة 35 – 37°م لمدة ساعتين ، ويحفظ على درجة 4م لليوم التالي ، وبعد ذلك نقرأ النتيجة لوجود الـ (Hemolysin) الذي يسبب تحللاً للخلايا الحمراء.

التركيب الأنتجيني .Antigenic Str .

تحتوي هذه البكتيريا على اثنين من الأنتجينات هما الجسدي ، ويرمز له بالرمز (O) ، والسوطي ، ويرمز له بالرمز (H) وجميع أنواع بكتيريا الكوليرا متجانسة .

الإصابة Pathogenicity :

يتميز مرض الكوليرا بظهوره المفاجيء والحاد وإخراج البراز السائل دلالة على شدة الإسهال (Watery diarrhoea) ، والتقيؤ (Vomiting) ، والمغص العضلي (Muscular cramps) ، وانهيار عام .

وتتكاثر عصيات أو واويات الكوليرا بحرية في تجويف الأمعاء الغليظة ، وتوجد بأعداد كبيرة في محتويات الأمعاء ، ويحتوي البراز على قشرة بيضاء (White flakes) بكثرة ، وهي غالباً عبارة عن مخاط وخلايا طلائية، والبراز في هذه الحالة يسمى براز ماء الرز (Rice water stool) . لا تخترق البكتيريا عمق جدار الأمعاء وخاصة لا تغزو مجرى الدم، ومن المحتمل أن يحدث التهاب في المرارة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

إذا حدث تأخير في نقل البراز للفحص المخبري ، فإن استعمال سائل الحفظ (Preservinfiuid) يكون ذا قيمة في المحافظة على حيوية هذه البكتيريا ، ويمنع نمو البكتيريا الأخرى المتواجدة في الأمعاء .

محلول الحفظ Preserving fluid

حضر المحلول بالطريقة التالية :

أذب 12.405 جرام من (Boric acid) و 14.912 جرام من كلوريد البوتاسيوم في 800 مللتر من الماء المقطر الساخن ، وبعد التبريد أكمل حجم السائل إلى اللتر بإضافة الماء المقطر إلى250 مللتر من هذا المحلول. أضف 133.5 مللتراً من 02. M من هيدروكسيد الصوديوم، واجعل الخليط يصبح لتراً بإضافة الماء المقطر، ثم أضف200 جرام من ملح البحر الجاف الذي يتكون من (27 جرام من كلوريد الصوديوم +1 جرام من كلوريد البوتاسيوم + 3 جرام من كلوريد المغنيسيوم المائي ($MgCl_2$ $6H_2O$ + 1.75 جرام من كبريتات البوتاسيوم المائية ($MgSo_4 . 7H_2O$) . رشح المحلول من خلال ورقة الترشيح ، ثم وزع 10 مللتر في كل أنبوب ذي غطاء وعقم في جهاز الأوتوكليف، الـ PH النهائي هو 09.2 . امزج 1-3 جرام من البراز مع 10 ملم من محلول الحفظ .

الطرق الزراعية Cultural method

1. أنشر جزءامن عينة البراز مباشرة على طبق من (Tellurite - gelatin - agar) Monsur's medium ، ويوضع في الحاضنة لمدة 18 – 24 ساعة . هذه الأوساط اختيارية جداً للـ Vibrio حيث تمنع نمو البكتيريا الأخرى الموجودة في الأمعاء . يمكن استعمال Alkaline-nutrient agar حيث الـ PH هو 8.2 وتعطي نتائج جيدة .
2. وفي نفس الوقت يمكن حقن (Inoculation) أنبوب من (Pepton water) بالمخاط والقشرة التي تكون في عينة البراز، ويوضع الأنبوب في الحاضنة لمدة 6 ساعات وفي أثناء هذه الفترة إذا وجدت بكتيريا الكوليرا فإنها ستنمو بحرية وعلى سطح الوسط .

يفحص النمو في الـ Peptone water بعمل فيلم ملون يحضر من قطرة من على سطح النمو . لا تنشر على الشريحة وجفف في الهواء وثبت بالحرارة واغسل تحت تيار من الماء لإزالة الجزئيات الجافة من الـ Peptone ، ويصبغ الفيلم على الشريحة بمحلول مخفف من Carbol fuchsin ولمدة دقيقة واحدة وبعد ذلك الفحص تحت المجهر واعمل تجربة الحركة (Motility test)وعادة يعمل زراعة في الـ Peptone لعدة مرات متتالية للتأكد من غياب جراثيم الكوليرا .

وفي حالة الحصول على نمو نقي ، فإنه يفحص لمعرفة تخميره للسكر ويعمل فحص V.Pوال (Hemolysis) . وأخيراً تجرى تجربة التخثر (Agglutination) باستخدام (O - anti serum) ويمكن تشخيص السلالات Ianaba و Ogawa باستخدام أمصال متخصصة لها .

ولكي نميز الـ EL tor Vibrio يمكن الاعتماد على إنتاج الـ Hemolysin .

	1	2	3	4	5	6
Motility	+	+	+	+	−	+
Growth at 37 °C	+	?	+	+	−	D
Growth without NaCl	−[a]	−	+	+	+	.
Growth in 6 % NaCl	D	+	−	−	−	−
Growth in KCN medium	d	.	+	−	−	d
Citrate as C source	+	.	+	−	−	d
Gas from glucose	−	−	d	−	w/−	−
Carbohydrates, acid from:						
inositol	−	−	−	+	−	−
lactose	(+)	−	d	(+)	−	−
sucrose	D	D	+	−	d	d
VP	D	.	d	−	−	−
Starch hydrolysis	+	+	+	−	+	−
Nitrates reduced	+	+	+	+	+	+
Indole	+	D	+	+	−	−
Gelatin hydrolysis	+	D	+	−	+	(+)
Casein hydrolysis	+	D	+	−	.	D
Arginine hydrolysis	−	.	+	d	+	D
Lysine decarboxylase	+	.	−	+	−	−
Ornithine decarboxylase	+	.	−	+	−	−
Lipase	+	.	+	−	+	D
Sensitivity to O/129	+	.	−	−	−	−
Chitin decomposition	d	+	−	.	.	D

1 *Vibrio* spp.
2 *Beneckea* spp.
3 *Aeromonas* sp.
4 *Plesiomonas* sp.
5 *Necromonas* sp.
6 *Chromobacterium* spp.

[a] Growth in tryptone broth without added NaCl (Hugh & Sakazaki, 1972) but not in peptone water without added NaCl (Sakazaki *et al.* 1963).

جدول رقم (15)

عزل بكتيريا الكوليرا من الماء

يضاف 100 مللتر من 10٪ من محلول الـ Peptone محتوياً على 5٪ من كلوريد الصوديوم المعقم ودرجة الـ (PH) 9 إلى 900 مللتر من عينة الماء والتي بدورها توزع على قناني أو قوارير معقمة وتوضع هذه القوارير في الحاضنة ، وبعد 24 – 48 ساعة تزرع البكتيريا النامية على أوساط اختارية .

يمكن استعمال كمية كبيرة من الماء للفحص ، وذلك بترشيحها خلال غشاء الترشيح وزراعة الراشح في الـ Peptone water .

Campylobacter

تعرف هذه البكتيريا أكثر ما تعرف بـ *Vibrio fetus* ، وغير الهوائي منها يسمى بـ*Campylobacter fetus* . وقد عزلت من حالات إسهالات معوية شديدة تشبه في أعراضها أعراض حالة الكوليرا حتى غدت الحالة المسيطرة من بين حالات الإصابات المعوية وبخاصة عند الأطفال .

الشكل Morphology :

سالبة التفاعل مع صبغة جرام (g - ve) ، عصوية متحركة ، غير منتجة للمحفظة والأبواغ .

الصفات الزراعية .Cultural char :

تنمو في جو فيه 5٪ أكسجين ولا تنمو في الأجواء الهوائية الطبيعية ولا تحت الظروف الهوائية المجبرة ولا في الأوساط المحتوية على مواد مختزلة ولا تنمو على سطح الأوساط الصلبة .

يستخدم الوسط Skirrow's agar محتوياً على دم ومضادات حيوية لتنمية هـذه البكتيريا ولا ينصح بتنميتها على وسط خال من الدم أو محتوياً Cephalosporins. هنـاك نوعان آخران من هذا الجنس هما *C. jejuni* و *C coli* .حيـث تحتـاج هـذه البكتيريـا الى درجة 42م للحضانة عند عزلها من البراز حيث لا تنمو الأنـواع السـاكنة طبيعياً في الـبراز تحت هذه الدرجة .

تعتبر هذه الأنواع من الـ Campylobacter مقاومة للبرودة ولذلـك لابـأس لـو حفظت عينة البراز في الثلاجة لمدة 24 ساعة قبل الزراعة . تنمو هذه البكتيريا على أوسـاط اختيارية مثل Campy - BAP تحت الظروف المذكورة أعلاه وتستغرق مدة الحضانـة 72 ساعة قبل التخلص من الأطباق معطية نتيجة سلبية . لا بد من تزويد هذه البكتيريا بظروف تهوية مناسبة وتشمل 5 ٪ أكسجين و 10٪ CO_2 والباقي N_2 .

تستخدم طريقة ترشيح البراز كطريقة ممتازة لعزل أنـواع الـ Campylobacter مستخدمين غشاء ترشيح من أسيتات السليلوز بفتحات حجمها 0.65 أو 0.8 ما يكرون ، يمكن تخفيف البراز إذا كان ضرورياً ، ثم يضاف عدد من قطرات الراشح علـى وسـط غـير اختياري وتحقن تحت 37 م في جو فيه قليل من الأكسجين . أو يمكن وضع غشاء الترشـيح على سطح الوسط الصلب وتضاف قطرة من البراز على الغشاء ويحضن الطبق مـن دون أن يقلب في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 – 60 دقيقة أو تحت 37°م ثم يـزال غشـاء الترشـيح ويوضع الطبق في الحاضنة . تمتلك أنواع Campylobacter و الـ Helicobacter قدرة على اختراق غشاء الترشيح .

تفحص الأطباق بعد 48 ساعة ثم بعد 5 أيام لتشخيص المستعمرات والتي تتميز باللون الرمادي إلى زهري أو رمادي مصفر ، ومخاطية قليلاً . وربما تظهر بعض المستعمرات تأثيراً ذيلياً على خطوط التخطيط .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char :

ينظر الجدول رقم 16

	1	2	3	4	5	6	7
Motility	−	−	.	+	+	−	−
Growth in air	+	w	−	−	−	+	+
Growth under anaerobic conditions	+	+	+	w	+	+	+
Catalase	D	−	.	+	−	−	−
Oxidase	−•	+	.	+	+	−	−
Swelling of microbial cell	−	−	−	−	−	+	−
Colony adherent to medium	−	+	+	−	−	−	+
Growth at 42 °C	−	w	.	d	−	−	.
Growth favoured by O_2	.	+	−	+	+	+	.
Growth favoured by CO_2	D	+	.	.	.	+[a]	.
Growth improved by blood/serum	D[b]	+	.	.	.	+	+
Growth improved by moisture (closed jar)	+	+	.	.	.	+[a]	.
Carbohydrates [F/O/−]	F	−	.	−	−	F	F/−
Glucose, acid from	+	−	−	−	−	+	+
Starch hydrolysis	.	−	+	.	.	.	+[c]
Nitrate reduced	+	+	.	+	+	−	.
Indole	D	−	.	−	−	−	.
Gelatin liquefied	−	−	w	−	−	−	−
Urease	d	−	+	−	−	−	D
H_2S	−	(w)/−	.	d	+	−	.
Arginine dihydrolase	.	−	.	.	.	+	D
Lysine decarboxylase	.	+	.	.	.	.	.
Ornithine decarboxylase	.	+	.	.	.	.	.

1 **Haemophilus** spp.
2 **Eikenella corrodens**; *Bacteroides corrodens*; HB-1
3 Anaerobic corroding organism (Jackson & Goodman, 1972)
4 **Campylobacter fetus**; *Vibrio fetus*
5 **Campylobacter sputorum**
6 **Streptobacillus moniliformis**; *Actinobacillus muris*; *Actinomyces muris*
7 **Mycoplasma** spp.; **Acholeplasma** spp.

• Some strains of *H. parainfluenzae* may be oxidase positive (Sneath & Johnson, 1973).
[a] Requirement for growth.
[b] Blood requirement is for haematin (X factor).
[c] False positive due to amylases in serum.

جدول رقم (16)

Helicobacter spp.

يرتبط النوعان *H. cinaedi* و *H. fennlliae* بالاسهالات والتهاب الشرج والتعفنات والتهاب الأمعاء والمعدة عند اللوطيين من الذكور . بينما يرتبط النوع *H. pylori* بالتهاب غشاء المعدة وقرحة القناة الهضمية . تعزل هذه البكتيريا من عينات نسيجية حية Biopsy جمعت بالمنظار ونقلت إلى المختبر في حاويات معقمة . يمكن حفظ العينة في الثلاجة لمدة 5 ساعات قبل البدء بالعمل .

الشكل Morphology

g - ve، عصوية ، منحنية ، متحركة، لا تحتوي على محفظة وغير منتجة للأبواغ ، يفضل استخدام 1. ٪ Basic fuchsin كصبغة بديلة بدلاً من Safranin وهذا يؤدي إلى ظهور صفاتها الخلوية الشكلية بشكل مثالي .

الصفات الزراعية .Cultural Char :

وصف العالم Parsonnet وزملاؤه تقنية الزراعة ملخصها : يغسل النسيج في dextrose - phosphate broth وينشف على ورقة ترشيح أو شاش معقم ، للتخلص من الـ broth الزائد ويضغط على سطح شريحة زجاجية معقمة بعد ذلك توضع الأنسجة في dextrose- phosphate broth ثم تحقن في الوسط المناسب . لقد وجد بأن استخدام الوسط غير الاختياري مثل Chocolat agar و Brucella agar مضافاً إليه 5٪ خلايا حمراء قد أعطى نتائج مرضية في عزل *H. pylori* من عينات معدية حية . ووجد أيضاً بأن الأوساط الاختيارية قد أعطت نتائج جيدة في عزل هذه البكتيريا مثل Skirrow's agar و Modified Thayer-Martin agar (MTM) ويمكن استخدام أي وسط جيد للـ Campylobacter مع دم ومضاد حيوي مثل Cefoperazone لنفس الغاية .

تبلغ مدة الحضانة 7 أيام في جو فيه رطوبة وقليل من الأكسجين ودرجة الحرارة 35 –37م . تظهر المستعمرات صغيرة شفافة دائرية .

الصفات الكيميائية الحيوية Bioch. char :

تعطي هذه البكتيريا نتائج إيجابية مع الـ Oxidase والـ Catalase والـ Urease وتعطي نتيجة سلبية مع فحص Hippurate hydrolysis ولا تعطي H_2S في T.S.I. ومتغيرة التفاعل في اختزال النيتريت Nitrate reduction .

Haemophilus influenza

يستعمل مصطلح (Hemophilic) لكي يدل على الجراثيم التي تحتاج الدم لنموها . يزودها الدم بعاملين هما العامل X(Haematin) الثابت حرارياً والثاني العامل V المتغير حرارياً وهو مساعد أنزيم Nicotinamide -adenine-dinncleotide (NAD) coenzyme . توجد هذه البكتيريا بشكل طبيعي في حنجرة الإنسان ، وترتبط بالالتهاب الحاد والمزمن للجهاز التنفسي .

يمكن لهذه البكتيريا أن تسبب التهاب السحايا المتقيح (Pyogenic meningitis) والتهاب بالحنجرة والقصبة الهوائية (Laryngo - tracheitis) .

الشكل Morphology :

خلايا عصوية رفيعة وصغيرة جداً ، g - ve ، تظهر منفردة أو على شكل أزواج ، غير متحركة ، لا تحتوي على أبواغ ، يمكن مشاهدة العصيات الدائرية Oval coccobacilli ، ومن (Culture) يمكن مشاهدة تعدد في الشكل (Pleomorphism) ، وفي بعض السلالات خاصة الموجودة في التهاب السحايا يمكن أن تظهر على شكل خيوط منحنية طويلة . تحتوي السلالات الناعمة على محفظة وبذلك يحصل تداخل في التفاعل Cross - reaction بين *H. influenzae* type & 6 Pneumococci بسبب التشابه في مواد المحفظة .

الصفات الزراعية .Cultural char :

هوائية، درجة الحرارة المثلى 37 م لا تنمو على الأوساط العادية ، ولكن يمكن أن تنمو بوجود الدم في الوسط مثل Blood agar ، أو بشكل أفضل Blood agar مسخن والمسمى بـ Chocolate Agar .

تتصف مستعمرات السلالات الخشنة على الـ Blood agar بأنها صغيرة، شفافة ، مثل الرذاذ . ويظهر أفضل نمو لها على الأوساط التي تحوي مكونات الخلايا الحمراء ، ومثال ذلك Chocolate agar. والسلالات الناعمة التي تحتوي على المحفظة تتصف مستعمراتها بأنها كبيرة مخاطية Mucoid ينشط نموها إذا زرعت مع Staph أو أي بكتيريا أخرى تفرز العامل V حيث ينتشر في الوسط وتسمى هذه الظاهرة بالتبعية Satellitism .

الصفات الكيميائية الحيوية Bioch. char :

تخمر الـ *H. influenzae* عادة معظم السكريات مثل الجلوكوز ، ويمكن إنتاج الأندول بوساطة بعض السلالات . لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 17 .

الإصابة Pathogenicity :

توجد السلالات الخشنة من *H. influenza* في 30 –80٪ من الحالات الطبيعية للحنجرة في الإنسان وتعتبر ضارة بحدة مثل الـpneumococci التي توجد في الجزء العلوي من الجهاز التنفسي، ولذلك فإنها ترتبط بحالات الالتهاب مثل التهاب الجيوب (sinusitis)، التهاب الرئة الشعبى (Bronchitis) والتهاب الرئه الشعبي (Bronchopneumonia). ويحدث ذلك عندما تكون مقاومة الجهاز التنفسي للغزو البكتيري قليلة . الحالة التي تتبع التهاب فيروسي أو في حالة التقدم في السن .

بين عام 1889م و عام 1933م كان الاعتقاد السائد أن هذه العصيات هي المسؤولة عن حالة الأنفلونزا في الجهاز التنفسي حتى حدث عام 1933م اكتشاف فيروس الأنفلونزا حيث وجد بأن عصيات البكتيريا هذه لم تكن مسببة لمرض الأنفلونزا بذاتة .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Catalase	+	+	+	.	+	−	(+)	.	+	+	(+)	−	+
Haemolysis	−	−	+	−	−	−	−	(+)	−	+	−	−	+
Growth on chocolate agar	+	+	+	.	+	+	−[a]	−[a]	+	+	−[a]	.	−[a]
X requirement	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
V requirement	+	+	+	+	−	−	−	−	+	+	+	+	+
CO_2 requirement	−	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	+	+
NaCl requirement (%)	.	.	.	1	0.5	< 2.5	−	.	.	.	.	0.5	0.6
Serum or other enrichment from blood	−	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	.
Acid from glucose[b]	+	(w)	.	+	+	+	+	−	+	w	+	+	+
Indole	d	−	d	−	+	−	−	−	−	d	−	−	d

1 Haemophilus influenzae
2 Haemophilus suis
3 Haemophilus haemolyticus
4 Haemophilus gallinarum
5 Haemophilus haemoglobinophilus; *H. canis*
6 Haemophilus influenzaemurium
7 Haemophilus aphrophilus
8 Haemophilus ducreyi
9 Haemophilus parainfluenzae
10 Haemophilus parahaemolyticus; *H. pleuropneumoniae*
11 Haemophilus paraphrophilus
12 Haemophilus paragallinarum
13 Haemophilus paraphrohaemolyticus

[a] Positive in CO_2.
[b] See text, Section 7.10.1, for note on acid production from carbohydrates, and also Sneath & Johnson (1973).

جدول رقم (17)

بجـانب اعتبارهـا سـبباً في الالتهـاب الثـانوي للجهـاز التنفسـي ، تعتـبر الـ **H. influenza** هي المسبب للالتهابات الحـادة والمزمنـة للشـعب الهوائيـة . وقـد وجـدت أجسام مضادة للـ **H. infuenza** في دم المريض المصاب بالتهاب في الشعب الهوائية ، وقـد لوحـظ أنـه تنـاول الأدويـة الكيميائيـة فـإن عـدد الـ **H. influenza** ينقــص في البلغـم . (Sputum)

يمكـن ظهـور التهـاب السـحايا المتقيـح (Pyogenic meningitis) ، والتهـاب القصبة الهوائية والبلعوم الحاد (Acute laryngo - tracheitis) بسبب هذه العصيات ، في الأطفال دون الخامسة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

أفضل طريقة هي زراعة البلغم على (Chocolate agar) ، ويمكن عمل شريحة من راسب سائل النخاع الشوكي C.S.F. في حالة التهاب السحايا ، حيث تشاهد خلايا عصوية g - ve ومتعددة الأشكال ناعمة على شكل تجمعات صغيرة . تعتبر نتيجة زراعة الدم في هذه الحالة عادة إيجابية .

Haemophilus aegypticus

وترتبط هذه البكتيريا مع التهاب ملتحمة العين الحاد (Conjunctivitis) .

الشكل Morphology والصفات الزراعية Cultural char. :

تشبه هذه البكتيريا الـ *H. influenza* ، تماماً باستثناء أنها توجد داخل الخلايا (Intracellular)، البيضاء في الإفرازات الالتهابية (Inflammatory exudate). أما الصفات الزراعية فإنها مشابهة تماماً للـ *H. influenza* .

Haemophilus ducreyi

يرتبط وجودها مع الدرن (Chancroid), ومن الناحيه الشكلية فإنها تشبه الـ *H.influenza* ، ويمكن أن تظهر على شكل أزواج وسلاسل . وتوجد في إفرازات موقع الالتهاب وتشير الدلائل إلى أنه من الصعب زراعتها حيث أنها طفيلية مجبرة (Strict Parasite) ، عند الزراعة يفضل أخذ الإفرازات وحقنها للوسط (Chocolate agar) الذي يسمى بوسط الدم المسخن مباشرة ، ثم احفظ في الحاضنة تحت درجة 35 م .

لدارسة الصفات الكيميائية الحيوية ينظر جدول رقم 17 .

BRODETELLA

يوجد أربعة أنواع تتبع لهذا الجنس هي *B. bronchiseptica* و *B. avium* و *B. parapertussis* و *B. pertussis* . يتواجد النوع *B. bronchiseptica* في الأرانب والكلاب وحيوانات أليفة ومتوحشة أخرى . ويتواجد النوع *B. avium* في ديك الحبش ، وباستثناء هذا النوع فإن جميع الأنواع الأخرى تسبب التهاباً في المسالك التنفسية عند الإنسان .

وعزل النوع *B. bronchiseptica* من جروح ملتهبة عند الإنسان وهذا النوع ينمو على الوسط MacC .agar وكذا الحال بالنسبة للنوع *B. parapertussis* والنوع *B. Pertussis* .

أهم عضو تابع لهذا هو مسبب مرض السعال الديكي (Whooping cough) حيث كان تصنيفه إلى زمن قريب تابع للجنس (Haemophilus) بسبب احتياجه للدم عند عزله من العينة الطبية . وفيما بعد ، فقد اعتبرت عصيات السعال الديكي تابعة للجنس (Bordetella) .

Bordetella pertussis

هذه العصيات هي مسببة مرض السعال الديكي (Whooping cough) ، واحدة من مسببات الحمى خاصة عند الأطفال والتي تؤثر على الجهاز التنفسي . وتتصف الحالة بالسعال الشديد الذي يتبعه خروج أصوات (تزمير) وصوت السعال يشبه صوت صياح الديك .

الشكل Morphology :

عصيات بيضاوية (Oval cocco - bacilli) ، صغيرة ، gram - ve ، متشابهة في الحجم والشكل أكثر من *H. influenzae* ، ويمكن مشاهدة العصيات (Bacilli)

فقـط ، غير متحركـة ، لا تحتـوي علـى أبـواغ ، تشـاهد المحفظـة في الزراعـة الحديثـة (Young culture) .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ، من العادة أن تتم زراعتها أولاً على أوساط محتوية على كميات كبيرة من الدم الطازج ، بينما في الزراعة الثانية (Sub . culture) ، يمكن استعمال أوسـاط تحتـوي على مصل فقط ، أي من دون الخلايا الحمراء والهيموجلوبين ، أي أنها لا تحتاج إلى العـامل X & V (الموجود في الخلايا الحمراء) من عوامل النمو .

ويضـاف إلى الأوسـاط الزراعيـة المسـتخدمة Methicillin 2.5 ul/ml أو Cephalexin 40 ug/ml وفضـل البعـض الأخير على الأول . مـن الأوسـاط الممتـازة لتنمية هذه البكتيريا Regan Lowe agar ويمكـن اسـتخدام أوسـاط نقـل مثـل Cold Casein hydrolysate أو Casa amino acid broth للمحافظة على حياة البكتيريـا في العينة لحين زراعتها .

تحتاج الزراعة الأوليـة للـ (*B. pertussis*) الوسـط (Bordet - gengou's) والمكون من (Potato-blood - glycerol agar) ، وتتصف المستعمرات بأنها صغيرة ، محدبة وناعمة ، وتكون المستعمرات لزجة مخاطية (Mucoid) وعلى الـ (Blood agar) تتكون حَلقة ضيقة من تحلل الدم . وتشبه قطرات الزئبق وتحتاج إلى 7 أيام للنمو .

الصفات الكيميائية الحيوية .Bioch - char

تتلخص في تخميرها للجلوكوز واللاكتوز منتجة حامضاً مـن دون غـاز ، وللمزيـد ينظر جدول رقم 20 .

الإصابة Pathogenicity :

يتصف مرض السعال الديكي بإصابة في الغشاء المخاطي للجهاز التنفسي ، وتتراوح فترة الحضانة بين 7 – 14 يوماً . ويمكن حدوث مضاعفات ، منها التهاب وتوسع الشعب (Bronchiectasis) ، وهبوط في الرئة (Lung collapse) والتهاب الشعب والرئة (Broncho - pneumonia) ، واختلاجات أو رجفات (Convulsions) . يمكن مشاهدة البكتيريا على أسطح الخلايا الطلائية في الشعيبات الهوائية ، وهذا السطح من الالتهاب مسؤول عن مغصات وتقلصات الشعب الرئوية . تخرج الجراثيم المسببة مع رذاذ السعال أو في البلغم اللزج (Viscid sputum) وعادة يمكن مشاهدتها في الأسبوع الثاني والثالث من الإصابة بالمرض .

وهو المرض الوحيد الذي يلتصق المسبب بالخلايا الطلائية المهدبة . يكمن الضرر من جراء الإصابة بهذه البكتيريا في المحفظة بسبب إنتاجها للسموم التالية :

1. dermonecrotic T
2. Filamentous haemagglutinins
3. adenylate cyclase
4. Endotoxin
5. Tracheal cytotoxin
6. Exotoxin (pertussis T.)

يحدث ارتفاع في عدد الخلايا اللمفاوية يصل إلى 70 – 80 ٪ ومجموع الخلايا البيضاء 15 – 30 ألف خلية لكل ملم^3 من الدم.

التشخيص المختبري Lab. diagnosis :

تشمل العينات المستعملة على مسحات من البلعوم الانفي (Nasopharyngeal swab) ، ورذاذ السعال (Cough droplet) . والوسط المستعمل هو (Bordet - gengou) ، ويسمى طبق السعال حيث يوضع على بعد 4–6 إنشات من فم المريض خلال عملية السعال . أما في حالة المسحات، فإن الماسحة (Swab) تغمس في قليل من محلول البنسلين ، أو أن يضاف البنسلين للوسط قبل الزراعة . وهذا لا يسمح لنمو البكتيريا الأخرى ، ويسمح فقط لل (*B. pertussis*) خلال 2 – 4 أيام . واستعمال التجارب المصلية باستخدام أمصال خاصة ضدها يساعد على التشخيص ويؤكده.

PASTEURELLA-YERSINIA

تعتبر أنواع الـ **Pasteurella** ساكناً طبيعياً للقناة التنفسية والهضمية لأنواع مختلفة من الحيوانات الأليفة والمتوحشة والطيور ، وتسبب التهابات القناه التنفسية ، والهضمية وتعفن الدم النزفي للعديد من الحيوانات . يكتسب الإنسان الإصابات بهذه البكتيريا من خلال عضات الحيوانات لكن تكتسب الإصابات التنفسية من خلال استنشاق الهواء الملوث بها . أو من مصادر غير معروفة .

يعتبر النوع ***P. multocida*** أكثر الأنواع تسبباً لأمراض في الإنسان وتشمل أشباه الأنواع **Subspecies** التالية **septica** و **multocida** و **gallicida** حيث عزلت من جروح عضات الحيوانات ومن الإفرازات التنفسية لمرضى التهاب الرئة وسائل النخاع الشوكي **CSF** وعينات خزعية لالتهاب المفاصل ومن التقرحات والدم والتهاب العظام وسوائل المفاصل . أما النوع ***P. hemolytica*** فإنه بسبب التهاب الرئة في الحيوانات ، والنوع ***P.Pseudotubereulosis*** يسبب السل الكاذب في الحيوانات والطيور أما النوع ***P. tularensis*** فإنه يسبب التهابات مختلفة في الإنسان والحيوان .

تتشابه أنواع من هذا الجنس مثل ***p. hemolytica*** و ***P.urea*** و ***P. aerogens*** مع الجنس **Actinobacillus** في دراسة الـ **DNA**

أما النوع الأهم فهو المرتبط بمرض الطاعون **(plague)** في الإنسان والالتهابات الداخلية الحادة والمزمنة في أنواع كثيرة من الحيوانات والطيور .

Pasteurella pestis

الشكل **Morphology**

عصوية بيضاوية ، قصيرة ونهاياتها دائرية أي أنها **(Coccobacilli)** وتظهر إما مفردة أو على شكل أزواج .

(gram - ve) ، وعند صبغها بصبغة خفيفة مثل (Methylene blue) فإنها تظهر قطبين (Bipolar) ، وهي غير متحركة باستثناء *P. tularensis* ، ولا تحتوي على أبواغ ، وغالباً ما تحتوي على محفظة ، ويظهر تعدد الأشكال (Pleomorphism) بزيادة فترة الحضانة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ويمكن زراعتها على أوساط عادية تحت ظروف لا هوائية . تنمو الـ *P. pestis* بشكل ممتاز على Blood agar أو مستخلصات الأنسجة (Tissue extract) مع حامض أميني (Cystine) كمادة إضافية .

تعتبر عصيات الطاعون حساسة للأكسجين الحر نسبياً ولذلك يمكن ألاّ يتطور النمو تحت الظروف الهوائية إذا كانت كمية البكتيريا المحقونة (Inoculum) قليلة .

ويمكن التغلب على هذه العقبة بإضافة الدم إلى الوسط أو بسحب الهواء . تتصف المستعمرات على الأوساط الصلبة في البداية بأنها صغيرة جداً شفافة ، بيضاء ، على شكل أقراص دائرية ، وفيما بعد تصبح كبيرة الحجم .

إن زيادة CO_2 لا يحدث النمو وربما تظهر المستعمرات ناعمة أو خشنة ، ويؤدي نمو *P. multocida* إلى ظهور اللون البني حول المستعمرة النامية على سطح الوسط ، وتنتج رائحة مثل رائحة الفطر (المشروم) .

الصفات الكيميائية الحيوية .Bioch. char

تتلخص في تخميرها للجلوكوز والمنيتول منتجةً حامضاً من دون غاز . ولمزيد من المعلومات ينظر جدول رقم 18 و 19 .

الإصابة :Pathogenicity

في حالة الطاعون الدرني تدخل العصيات إلى الإنسان عن طريق عضة من قبل جرذان مصاب ، وتكون فترة الحضانة من 2 – 8 أيام . بعد ذلك يمكن أن توجد البكتيريا

بأعداد بسيطة في مجرى الـدم ، ولكـن تتوجـه بشـكل كبـير إلى العقـد اللمفاوية خاصـة في الفخذ ، حيث هي موقع الدخول إلى الجسـم ، وتنتفـخ وتتـورم العقـد اللمفاويـة والنتيجـة تكون كتلة دائرية تسمى (Bubo) ، ويكون هناك التهاب كثيف وتكون البكتيريـا موجـودة بأعداد كبيرة داخل الكتلة الدائرية (Bubo) . ويمكن ظهور النزيف في هذه الكتل ومـوت موضعي في النسيج مع نقص في عدد عصيات الطـاعون حتى تختفي في النهايـة . وفي حالـة تعفن الدم (Septicemia) تستطيع العصيات الدخول إلى مجرى الدم بأعداد كبيرة وتعفـن شديد في الدم يؤدي إلى الوفاة . ويمكن وجود هذه البكتيريا في الطحال .

وفي الطاعون الرئوي (Pneumonic plague) يظهر التهاب في الرئتين وتكـون العصيات موجودة في منطقة الشعب الرئوية داخل الرئتين ، وتظهر بأعداد كـبيرة في البلغـم حيث يكون معدياً جداً .

تكمن قدرة البكتيريا علـى إحـداث الإصابـة في المحفظـة الـتي تحمـي البكتيريـا مـن الابتلاع مع أن بعض السلالات تنتج سموماً خلوية Cytotoxins . وأكثر الأنواع حـدة في الإصابة هي *P. multocida* وربما يعزى ذلك لقدرتها عل استخدام الحديد الحر .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

تعرف الـ (Bubo) بأنهـا عبـارة عـن تضخـم للعقـد ناتجـة عـن الانتشـار السـريع للالتهاب المدمم للعقد اللمفاوية .

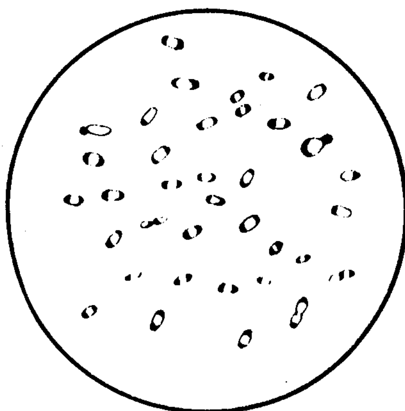
تثقـب الـ (Bubo) ، باسـتخدام إبـرة ، ويسـحب السـائل منهـا وتحضـر شـرائح وتصبغ بواسطة صبغة جرام وصبغة (Methylene blue) ، حيث يكون ظهور عصويـات g - ve ذات قطبين (Bipolar gram - ve bacilli) ذا أهمية تشخيصية . يمكن كذلك عمل الزراعة على الـ Blood agar ، وتعاد زراعة مستعمرة واحدة مـرة أخـرى ، حيـث سيكون النمو الناتج نقياً جاهزاً لمزيد من الفحوصات التشخيصية .

وتظهر أنواع هذا الجنس حساسية للبنسلين على غير عادة الـ g - ve . يمكن وضع ورقة ترشيح فيها 200 وحدة دولية من البنسلين على وسط طبق من B.A بعد زراعة pasteurella حيث تظهر حلقة منع النمو في اليوم التالي .

جدول رقم (18)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Motility at 22 °C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–
Catalase	+	+	+	+	–	+	w	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+
Oxidase	d	+	+	+	+	+	+	+	+	.	–	–	+	–	–	–	+
Growth on MacConkey agar	–	–	–	+	+	–	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	.
Growth improved by CO_2	.	.	.	.	.	.	–	–	–	+	+	+	+	.	.	.	.
Growth on KCN	+	–	–	d	–	–	.	.	.	.	.	.	.	–	–	–	–
Carbohydrates, acid from:																	
arabinose	d	d	–	d	–	–	d	–	+	+	–	.	–	+	+	+	+
lactose	d	(d)	–	d	–	d	(+)	+	+	–	–	+	–	–	–	(d)	–
maltose	d	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	–	+	+	+	–	+	+	–	+	d	–	d	+	+	+	+
raffinose	–	+	–	+	+	.	–	+	+	–	–	+	.	–	–	–	.
salicin	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	+	+	–	+
sorbitol	d	–	d	+	+	–	d	–	–	.	–	–	+	–	–	+	–
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–	–	+	–
trehalose	d	+	–	–	+	+	–	+	+	–	–	+	–	+	+	+	d
xylose	d	d	–	+	–	d	+	+	+	+	d	–	–	+	+	(+)	–
ONPG	d	+	–	d	–	d	+	+	+	.	–	.	–	+	+	+	.
Aesculin hydrolysis	–	–	–	d	+	–	–	–	+	.	–	–	–	+	+	–	+
Nitrate reduced	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+
Nitrite reduced	d	–	+	+	+	–	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	–
Indole	+	+	–	–	–	–	–	–	–	.	–	–	+	–	–	d	–
Gelatin hydrolysis	–	–	–	–	(+)	–	–	(+)	–	–	–	–	–	–	–	–	+
Urease	d	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	+	+	–
H_2S	–	–	–	–	(+)	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
Ornithine decarboxylase	+	d	–	–	–	d	–	–	–	.	.	.	–	–	–	+	–

1 **Pasteurella multocida**; *P. septica*
2 **Pasteurella pneumotropica**
3 **Pasteurella ureae**; *P. haemolytica* var. *ureae*
4 **Pasteurella haemolytica** type A
5 **Pasteurella haemolytica** type T
6 **Pasteurella gallinarum**
7 **Actinobacillus lignieresii**
8 **Actinobacillus equuli**; *Shigella equuli*; *S. equirulis*; *Bacterium viscosum-equi*; *B. nephritidis-equi*
9 **Actinobacillus suis**
10 Actinobacillus from sow's vagina (Ross *et al.* 1972)
11 **'Actinobacillus' actinomycetemcomitans**
12 **Haemophilus aphrophilus**
13 **Cardiobacterium hominis**
14 **Yersinia pestis**; *Pasteurella pestis*; plague bacillus
15 **Yersinia pseudotuberculosis**; *Pasteurella pseudotuberculosis*
16 **Yersinia enterocolitica**; Pasteurella X
17 **Necromonas salmonicida**; *Aeromonas salmonicida*



Actinobacillus

تشبه أعضاء هذا الجنس الأنواع التابعة للجنس Pasteurella من حيث طرق انتقال الإصابة للإنسان ومستودعاتها الطبيعية في الحيوانات . وتتشابه مع بعض أنواع الـ Pasteurella في دراسة الـ DNA . ويمكن تمييز أعضاء هذا الجنس عن pasteurella في الصفات الكيميائية الحيوية الواردة في الجدول رقم 19 .

يظهر التشابة جلياً في ظروف الزراعة ومتطلباتها وصفاتها وكذلك في صفاتها الشكلية .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Victoria blue 1/10000	+	+	−	±	−	+	−	+	+	±	+	±	+	+
Methylene blue 1/200000	−	−	−	−	±	−	−	±	±	+	+	+	−	+
Thionin 1/25000	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	+	±	−	+
Malachite green 1/50000	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+
Safranin O 1/25000	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+
Pyronin 1/100000	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+
Carbohydrates, acid from:														
arabinose	d	d	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	.	.
lactose	−	+	−	−	−	d	−	d	−	−	−	−	.	.
maltose	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	.
mannitol	+	+	−	+	−	−	+	+	+	+	+	+	.	.
salicin	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	.	.
sorbitol	+	+	−	+	−	−	−	+	+	−	−	+	.	.
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	.	.
trehalose	d	d	−	+	−	+	−	−	+	+	+	+	.	.
xylose	d	d	−	+	−	+	−	+	−	+	+	(+)	.	.
ONPG	−	+	−	−	−	+	−	d	−	+	+	+	.	.
Indole	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	d	.	.
Urease	−	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	+	.	.
Ornithine decarboxylase	+	+	+	−	−	+	−	−	−	−	+	+	.	.

1 **Pasteurella multocida** Midgley's subgroup *a* (human and animal strains)
2 **Pasteurella multocida** subgroup *aa* (human strains)
3 **Pasteurella multocida** subgroup *b* (human strains, all from dog-bites)
4 **Pasteurella multocida** subgroup *c* (human strains)
5 **Pasteurella multocida** subgroup *cc* (human strains)
6 **Pasteurella pneumotropica**
7 **Pasteurella ureae**
8 **Pasteurella haemolytica A**
9 **Pasteurella haemolytica T**
10 **Yersinia pestis**
11 **Yersinia pseudotuberculosis**
12 **Yersinia enterocolitica**
13 **Actinobacillus** spp.
14 Enterobacteria

In the first six lines, + = good growth; ± = some growth; − = no growth.

جدول رقم (19)

BRUCELLA

تعتبر أنـواع الـ **Brucella** سـاكناً طبيعيـاً للقنـاة التناسـلية والبولية للعديد من الحيوانات مثل الخراف والخنازير والأبقار والكـلاب . تحدث الإصابة للإنسان من جراء تناول الحليب الملوث أو التعرض المهني للحيوانات بخاصة الذباحون في المسالخ وكذلك المزارعون والبيطريون .

يحتوي هذا الجنس على الأنواع التالية :

2. ***B. melitensis***
1. ***B. abortus***
4. ***B. canis***
3. ***B. suis***
6. ***B. neotomae*** (نادرة)
5. ***B. bovis*** (نادرة)

وهذه الأنواع هي من أهم مسببات الأمراض للحيوانات خاصة الخراف والماعز والبقر والخنازير .

تسبب هذه البكتيريا مرض **(Brucellosis)** ، أو الحمى المتموجة **(Undulant fever)** ، أو الحمى المالطية **(Malta fever)** للإنسان عبر اتصاله المباشر مع فضلات الحيوانات المصابة أو من خلال استهلاك حليبها أو منتجات حليبها .

الشكل Morphology

g - ve ، **Coccobacilli** ، تظهر عادة على شكل بيضاوي أو دائري . ويمكن مشاهدة الشكل العصوي . تظهر هذه البكتيريا بشكل منفرد أو على شكل أزواج ، ولا تظهر أبداً في سلاسل قصيرة . غير متحركة . غير محتوية على أبواغ ويمكن وجود المحفظة صغيرة أحياناً .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ودرجة الحرارة المثلى 37°م . تنمو بشكل جيد على الأوساط الغنية خاصه Serum agar medium ، وتتميز المستعمرات بأنها صغيرة ، ناعمة ، شفافة ، على شكل أقراص ، وتحتاج من يومين إلى ثلاثة للنمو البدائي . تنمو بعض السلالات على الوسط MacC. agar وتتحول المستعمرات إلى بنية مع الوقت . يحتاج النوعان *B. abortus* و *B. ovis* إلى الحضانة اللاهوائية باستخدام Candle jar .

الصفات الكيميائية الحيوية .Bioch. char

لا تنتج هذه البكتيريا حامضاً وغازاً كافيين للمشاهدة مع السكريات .

ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 20 و 21 .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Catalase	+	+	+	+	+	d	+	+	−	+	+	+	+	+
Oxidase	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	−
Carbohydrate breakdown [F/O/−]	O	−	−	−	−	−	−	−	O	−[a]	−[a]	−[a]	.	−
PHB accumulation	.	.	−	−	+	−	.	+	.	.	.	.	.	.
Haemolysis	−/β	−/β	−	−	−	β	−	−	−/β	−	−	−	.	.
Growth at 42°C	+	+	.	d	−	−	d	+	−	.	−	−	.	−
Growth on nutrient broth/agar	+	+	−	d	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+
Serum requirement	−	−	+	d	−	−	−	−	−	−	−	−	.	−
Growth on MacConkey	+	+	−	d	d	−	+	.	−	.	.	−	−	+
Citrate as C source	+	d	−	d	w	−	−	d	−	.	.	−	−	(d)
Carbohydrates, acid from:														
glucose	+	−	−	−	−	−	−	−	−[b]	−[a]	−[a]	−[a]	.	−
lactose	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	.	−	.	−
maltose	d	−	−	−	−	−	−	−	(+)	−	.	−	.	−
xylose	+	−	.	−[c]	−[c]	−	−	−	−	−[a]	−[a]	−	.	−
Nitrate reduced	−	−	+	d	d	d	+	−	d	+	+	+	.	−
Gelatin liquefaction	d	−	+	−	−	+	−	−	d	−	−	−	.	−
Urease	d	−	−	−	d[d]	−	+	−	−	+	+	+	.	+
Phenylalanine	−	−	−	−	−	−	+	−	+	.	.	.	.	.

1 **Actinobacter anitratus**; *A. calcoaceticus*; B5W; *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica*; *M. glucidolytica*; *Herellea vaginicola*
2 **Acinetobacter lwoffii**; *Moraxella lwoffii*; *Mima polymorpha*
3 **Moraxella lacunata**; *M. duplex*; *M. liquefaciens*
4 **Moraxella nonliquefaciens**; *Mima polymorpha* var. *oxidans*
5 **Moraxella osloensis**
6 **Moraxella bovis**
7 **Moraxella phenylpyruvica**
8 **'Moraxella' urethralis**
9 **'Moraxella' kingii**
10 **Brucella melitensis**; *Alcaligenes melitensis*; *Brucella brucei*
11 **Brucella abortus**; Bang's bacillus
12 **Brucella suis**
13 **Bordetella pertussis**; *Haemophilus pertussis*
14 **Bordetella parapertussis**; *Haemophilus parapertussis*; *Alcaligenes parapertussis*

[a] Positive in the open tube of Hugh & Leifson's medium = oxidative.
[b] Positive on ascitic agar + glucose.
[c] May be positive when carried out as a buffered single substrate test.
[d] Some strains positive on first isolation; the property is soon lost.
β clear zone of haemolysis around colonies.

جدول رقم (20)

	1	2	3
CO_2 requirement	–	+	–
H_2S produced	–	+ (early)	D[a]
Growth in:			
thionin[b] 1/25000	–	–	+
1/50000	+	–	+
basic fuchsin 1/50000	+	+	–
safranin O 1/5000	+	d	–

1 **Brucella melitensis**
2 **Brucella abortus**
3 **Brucella suis**

[a] American strains positive; produce H_2S over several days. Danish strains do not produce H_2S. See note in text on geographical races.

[b] Dyes should be obtained from the National Aniline Division, Allied Chemical and Dye Company, New York.

جدول رقم (21)

الإصابة Pathogenicity :

الأنواع الثلاثة الأولى ضارة لأنواع كثيرة من الثديات ، ومن الطبيعي فإن البكتيريا تستطيع الدخول إلى الجسم عن طريق الجلد والجروح أو ملتحمة العين أو عن طريق القناة الهضمية . تظهر الخلايا البيضاء في موقع الإصابة وبداخلها البكتيريا حيث تكون قد ابتلعتها ومن ثم تتكاثر البكتيريا فيها .

غالباً ما تكون البكتيريا داخل الخلايا (Intracellular) ، ثم تحمل بوساطة الأوعية اللمفاوية إلى العقد اللمفاوية ، وتدخل البكتيريا إلى الخلايا وحيدة النواة (Monouclear cell) وتتكاثر فيها ولذلك تموت بعض خلايا العائل ، وبعد ذلك فإن البكتيريا المتحررة ومحتويات الخلية تحث الخلايا وحيدة النواة على التنشيط والتكاثر في نفس الموقع . ونتيجة لهذه المواجهة يتحقق لدنيا ما إذا كان الالتهاب غزواً توسعياً ام لا ؟ فإذا لم يكن الحال كذلك فإن الخلايا داخل الكريات البيضاء متعددة تشكل النواة (Polymorphonuclear leukocyte) ، والخلايا وحيدة النواة ، تنتقل إلى الدم . وبعد ذلك فإن المنحنى الجيبي الكبدي (Sinusoid liver) سيحتوي على أعداد كبيرة من الخلايا البيضاء المتطفل عليها .

وبذلك فإن خلايا كوبفر (Kupffer - cell) ، تحتوي على أعداد كبيرة من الجراثيم وبعد ذلك بأيام قليلة يتكون ورم حبيبي (Granuloma) صغير . وإصابة مشابهة يمكن ظهورها في الطحال والنخاع الشوكي والكلية . وتحدث الإصابة في الغدد الثدية في الثديات غير الإنسان مثل البقر والماعز والخراف ... الخ .

تستمر فترة الحضانة في الإنسان طويلاً ، ويمكن أن تصل إلى أسابيع أو حتى أشهر وتظهر الأعراض بشكل مفاجئ مع ظهور توعك (Malaise) وحمى وضعف وألم في العضلات (Onyalgia) وتصبب العرق (Sweats) .

تكون الحمى عادة متقطعة (Intermittent) خاصة حينما تكون الإصابة بـ *B. melitensis* . وتظهر أعراض مبهمة غير واضحة (Vague) في القناة المعدية المعوية وأعراض عصبية . وتكون البكتيريا عادة في الدم (Bacteremia) .

وفي الحالات الحادة يحدث تضخم في العقد اللمفاوية والطحال والكبد ، ويظهر أحياناً التهاب السحايا الدماغي (Meningoencephalitis) ، والتهاب القلب (Endocarditis) والتهاب النفرون (Nephritis) . وفي الحالات المزمنة يصبح من الصعب تشخيص الحالة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

يجب عمل زراعة الدم في جميع الحالات المشتبه بها ، ولكن لا تكون النتيجة إيجابية في أكثر من 30 – 50 ٪ من الحالات . في حالة بـ *B. melitensis* يمكن أن توجد البكتيريا في البول ولذلك يمكن زراعة البول .

عند زراعة الدم يجب التزويد بـ 5 – 10 ٪ من ثاني أكسيد الكربون . يمكن الحصول على نتيجة إيجابية لتجربة التخثر (Positive agg. reaction) بعد 7 – 10 أيام من بداية المرض .

يخفف المصل ثم يعامل مع الأنتجين وتكتب النتيجة على النحو التالي :

++++ (تخثر كامل ووجود راسب أي أن التفاعل 100٪ ، ويكون بصفاء الماء) .

+++ (حوالي 75٪ نسبة الصفاء أي أن التخثر شبه كامل ويوجد راسب) .

++ (حوالي 50٪ نسبة الصفاء ويوجد راسب واضح) .

+ (حوالي 25٪ نسبة الصفاء ويوجد راسب كثيف) .

بالإضافة لزراعة الدم يمكن زراعة نخاع العظم وسوائل المفاصل في حالة الاشتباه بإصابتها .

4- البكتيريا العصوية الموجبة لصبغة جرام

Gram positive bacilli bacteria

CORYNEBACTERIUM

تتواجد أنواع الجنس Corynebacterium والأنواع ذات العلاقة بها مثل Rhodococcus و Arcanobacterium و *Actinomyces pyogenes* في الطبيعة وتلعب دور المسبب للمرض والمتطفل على النباتات والحيوانات . ومعظم الأنواع غير ضارة للإنسان وتعتبر ساكناً طبيعياً للجلد والأغشية المخاطية .

تعتبر الأنواع *C. diphtheria* و *C. jeikeium* و *C. urealyticum* المسببات الرئيسية للالتهابات في الإنسان .

وقد عزل النوع *Arcanobacterium haemolyticum* من حالة التهاب الحنجرة ، النوع الذي كان تابعاً للجنس Corynebacterium وقد وجد بأن النوع Rhodococcus equi مسبب للالتهابات عند مرضى الـ AIDS .

وهناك أنواع تابعة لهذا الجنس تسبب حالة مشابهة لحالة الجذام ومتشابهة مع مسببة مرض الجذام *M. leprae* من الناحية المناعية والجينية إلا أنها زرعت من عينات مرضى الجذام .

والآن مع أعضاء الجنس Corynebacteria والأنواع ذات العلاقة بها والمرتبطة بإصابة الإنسان .

المرض الذي يسببه	النوع
التهاب الحنجرة والأنف والجلد والسم جهازي التأثير	C. diphtheria
إصابة جهازية ، جلدية ، ورئوية قلبية وقسطرية	*C. jeikeium*
إصابة جهازية وجلدية ومثانية وقسطرية	*C. urealyticum*
التهاب الرئة والعقد اللمفاوية	*C. pseudotuberculosis*
مرتبطة بالجذام	*Coryrebacterium sp. (leprosy derived)*
التهاب سحايا والتهاب غشاء البطن بشكل نادر	*C. aquaticum*
إصابة جهازية ورئوية عظمية	*Rhodococcus equi*
التهاب جروح وحنجرة وجلد وتقرحات	*Archanobacterium haemolyticum*
إصابة جلدية ونادراً قلبية	*Actinomyces pyogenes*

CORYNEBACTERIUM

تعريف : Gram + ve ، عصوية الشكل تترتب على شكل أزواج ويكون شكلها في الغالب مثل شكل الهراوة أي منتفخة عند القطب ، غير متحركة ، لا تحتوي على أبـواغ ولا تحتوي على محفظة ، هوائية ولا هوائية اختيارية بعض الأنـواع (Species) تنتج سموماً خارجياً (Exotoxin) فعالة .

أن *C. diphtheriae* هي البكتيريا المسببة لمرض الخناق (الدفتيريا) والذي يشتمل على التهـاب موضعي في الحنجـرة مـع إفـرازات لزجـة، وكذلـك تسـبب تسـمم الـدم (Toxaemia) بسبب إفراز السموم ذات التأثير العالي . هناك أنواع أخرى ضارة للحيوان وليس للانسان.

Corynebacterium diphtheriae

الشكل Morphology :

أسطوانية – عصوية الشكل ، . مستقيمة أو منحنية قليلاً ، وتكون النهاية ممتدة ، هي غير متحركة ، لا تحتوي على أبواغ .

وفي الزراعة (In culture) ، يمكن مشاهدتها على شكل الإجاص (Pear) ، أو شكل الهراوة (Club) أو شكل الكرة .

هي g + ve ، وعند صبغها بـ Methylene blue . تظهر مثل الخرزة ، وعند زراعتها على (Serum agar) مثل (Loffer's medium)تظهر الحبيبات الحلزونية Volutin granules. ويمكن كذلك مشاهدتها على شكل الحروف الصينية (Chineese - like - letters) .

يظهر أعضاء الجنس Arcanobacterium خلايا عصوية رقيقة g + ve مع تشعب قليل حيث تتكسر هذه التشعبات إلى أشكال كروية بعد 48 ساعة من الحضانة ، ويحفز التشعب بالحضانة اللاهوائية .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ومتوسط الحرارة بين 20–40°م ، بينما الدرجة المثلى هي 37°م . يمكن أن تنمو على أوساط عادية مثل Nutrient agar إلا أنها تنمو بشكل جيد وأفضل على Serum media . تظهر المستعمرات على(Loffler's serum medium). في البداية

صغيرة بيضاء ، على شكل أقراص غير شفافة (Opaque) مع حافة منتظمة ، وفيما بعد تصبح مراكز المستعمرات سميكة وتتحول الحواف إلى شكل منشاري Crenated .

أمّا على الـ Blood tellurite medium ، فهنالك ثلاثة أنواع من المستعمرات هي :

أ- *C. diphtheria gravis* : وتظهر مستعمرات كبيرة الحجم ، سوداء ، رمادية ، منبسطة دون لمعان .

ب- *C. diphtheria mitis* : وتظهر مستعمرات محدبة (Convex) ، وناعمة (Smooth) وشفافة .

جـ - *C. diphtheria intermedius* : وتظهر مستعمرات صغيرة ، سوداء ، دون لمعان (Lusterless) وتكون منطقة المركز على شكل قبة ومنبسطة وذات حافة غير منتظمة .

عند إستخدم الوسط Tinsdale Agar لعزل الـ *C. diphtheria* تظهر المستعمرات سوداء محاطة بدائرة بنية داكنة وتتطور الدوائر حول المستعمرات لكي تظهر داخل الوسط . يستخدم هذا الوسط خلال 4 أيام من تحضيره ومن مميزاته أنه لا يحفز نمو كثير من السلالات البكتيرية الأخرى .

ينمو النوع *A. pyogenes* بشكل جيد تحت ظروف لاهوائية ويحلل الجلاتين . يثبط النمو Arcanobacterium سم الـhemolysin الناتج من *S.aureus* ، يتميز النوع *R. equi* بإنتاج الصبغة التي تحتاج إلى عدة أيام لتتطور وتتحول من اللون الكريمي إلى الأصفر إلى الأحمر وتكون المستعمرات مخاطية وتظهر هذه البكتيريا نتيجة سلبية مع فحص ONPG .

Biochemical Char. الصفات الكيميائية الحيوية

تخمر كل من الجلوكـوز والجلاكتـوز والمـالتوز والديكسـترين (Dextrin) منتجـة حامضاً دون غاز ولا تخمر اللاكتوز والسكروز والمانيتول . أما سلالة **Gravis strain** ، فإنها تخمر كلاً من النشاء والجلايكوجين . لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 22 .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Motility	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+
Metachromatic granules	−	D	−	±[a]	+	+	+	.	−	d	d	d	−	−	−
Haemolysis	−	D	+	−	−	d	d	−	−	+	+	+	+	−	−
Growth improved by blood/serum	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−[b]	+	.	+
Carbohydrate breakdown [F/O/−]	−	F	F	F	F	F	F	?[c]	−	F	F	F	F	F	F
Carbohydrates, acid from:															
glucose	−	+	+	+	+	+	+	−[c]	−	+	+	+	+	+	+
lactose	−	−	−	−	−	d	d	−	−	+	+	−	(d)	+	+
maltose	−	+	+	+	+	d	+	−[c]	−	+	+	+	+	+	+
mannitol	−	−	−	−	−	−	−	.	−	−	−	−	−	+	+
salicin	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
starch	−	D	+	−	+	d	+	−	−	d	+	+	(d)	+	+
sucrose	−	−	−	+	+	−	d	−	−	+	d	d	(d)	−	−
trehalose	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
xylose	−	−	−	−	.	.	−	.	.	−	+	d	−	−	−
VP	−	−	−	−	−	−	−	−[c]	−	−	−	−	+	+	+
Aesculin hydrolysis	.	.	.	.	.	.	.	.	−	.	.	.	+	+	+
Nitrate reduced	−	+	−	+	+	+	d	−[c]	+	−	−	−	−	−	−
Gelatin liquefaction	D	−	+	−	−	−	d	−	−	+	+	−	−	−	−
Urease	d	−	+	−	d	+	+	−[c]	+	−	−	−	−	.	.
Arginine hydrolysis	−	−	−	−	−	+	+	−	−	.	.	−	−	−	.

1 **Kurthia** spp.
2 **Corynebacterium diphtheriae**
3 **Corynebacterium ulcerans**
4 **Corynebacterium xerosis**
5 **Corynebacterium murium**; *C. pseudotuberculosis-murium*; *C. kutscheri*
6 **Corynebacterium renale**
7 **Corynebacterium ovis**; *C. pseudotuberculosis-ovis*; Preisz-Nocard bacillus
8 **Corynebacterium bovis**
9 **Corynebacterium hofmannii**; *C. pseudodiphtheriticum* (and variant spellings of both specific epithets)
10 **Corynebacterium haemolyticum**
11 **Corynebacterium pyogenes**
12 **Corynebacterium vaginale**; *Haemophilus vaginalis*
13 **Listeria monocytogenes**; *Listerella monocytogenes*
14 **Listeria grayi**
15 **Listeria murrayi**

[a] ± indicates few granules.
[b] Needs blood but not X/V factors (Dunkelberg & McVeigh, 1969).
[c] Positive when Tween 80 added to medium (see p. 60).
D Different results in the varieties (gravis, mitis, and intermediate) of *C. diphtheriae*.

جدول رقم (22)

Diphtheria toxin سموم الدفتيريا

تنتج هذه البكتيريا سموماً خارجية (Exotoxin) ، فعالة حيث تبقى هـذه البكتيريـا في موقع الالتهاب ، ويتم امتصاص السموم المنتشرة إلى مجرى الدم ويؤدي ذلك إلى حدوث عـدة اضطرابـات جهازية في الجسـم (Systemic disturbances) عـن طريـق تثبيطهـا لتكوين البروتين خاصة في عضلات القلب والخلايا العصبية .

الإصابة Pathogenicity :

يظهر في الالتهاب الموضعي خاصة في منطقة الحلق إفرازات لزجة بيضاء، رمادية. ويبدأ الاتهاب باللوزتين ويمتد تدريجياً حتى يشمل جميع منطقة البلعوم الفموية (Oropharynx)، وتوجد العصيات بأعداد كبيرة في الإفرازات اللزجة وفي إفرازات الحنجرة .

عادة لايتم غزو الدم من قبل العصيات . وتؤثر السموم القابلة للانتشار على عضلات القلب، ويمكن أن تسبب الموت في الحالات الحادة، حيث يكون السبب هو هبوط القلب بسبب التهاب عضلات القلب التي لا تقوى على القيام بوظيفتها بشكل طبيعي .

وتتصف دفتيريا الأنف بتكون قشرة (Crust) . وأكثر الحالات حدة تسببها (Gravis) و (Intermrdius) بينما السلالة (Mitis) ، فإنها تسبب الإصابة الخفيفة ، باستثناء تسببها للحالات الحادة حيث تغزو منطقة الحنجرة والقصبة الهوائية وتؤدي إلى الموت بسبب إغلاق القصبة الهوائية وحدوث نقص في كمية الأكسجين الداخلة (Anoxia) .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

تؤخذ مسحات من الحنجرة (Throat swab) من منطقة الالتهاب وتزرع على وسط Loffler's ، في أنبوب وتوضع في الحاضنة لمدة 12 - 18 ساعة تحت درجة 37 مئوية . يمزج النمو الذي حصل عليه بعد فترة الحضانة وتحضر اللطخة Smear وتصبغ بطريقة (Neisser's)، حيث تظهر الحبيبات بلون أزرق غامق ، بينما باقي أجزاء الخلية تظهر بلون بني فاتح .

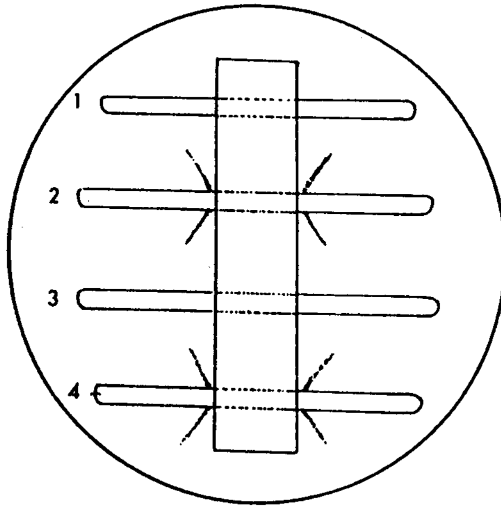
يمكن عمل لطخة Smear مباشرة من الماسحة Swab وصبغها بطريقة (Neisser's) ، ويمكن فحص الصفات الكيميائية الحيوية .

تجربة طبق إليك Elek plate test

ويتلخص الفحص بغمر شريط من ورق ترشيح منقـوع بمضـادات سمـوم الدفتيريـا تحت سطح وسط خاص قبل أن يتصلب في الطبق .

بعد ذلك تنشر البكتيريا المراد فحصها بطريقة التخطيط على سـطح الوسـط بشـكل يقـاطع شريط ورقة الترشيح بالإضافة إلى سلالتين بكتيريتين إيجابية وسلبية معروفتين .

يحضن الطبق تحت 37°م لمدة 24 ساعة ، ثم يفحص تحت الضوء للتحقـق مـن وجـود خـط ترسيب بزاوية 45° مع خط التخطيط . والشكل التالي يوضع ذلك .



وإن وجود خط الترسيب يدل على أن السـلالة المزروعـة أنتجـت سماً تفـاعل مـع الأجسام المضادة المتخصصة لـه . وتحـت ظـروف خاصـة قـد تحتـاج التجربـة إلى 72 سـاعة حضانة حتى تظهر خطوط الترسيب.

Diphtheroid bacilli

هذه الخلايا الدفتيرية غير سامة (Non toxigenic) ، ويمكـن أن تسـبب إصابـات خفيفة أو لا تسبب .

Corynebacterium hofmannii .1

توجد في الحنجرة بشكل طبيعي .

الشكل Morphology :

أقصـر طـولاً مـن خلايـا الدفتيريـا، شـكلها بيضـاوي ve + g . لا تحتـوي علـى (Volutin granules) عند صبغها بصبغة Albert's وNeisser's .

الصفات الزراعية .Cultural char

تنمـو في جـو هوائـي علـى الأوسـاط العاديـة ، ويكـون النمـو أغـزر مـن نمـو Diphtheria bacilli ، ومستعمراتها تكون أكبر وداكنة أكثر . أمـا صفاتهـا الكيميائيـة الحيوية فتكمن في أنها لاتخمر الجلوكوز أو السكروز .

Corynebacterium Xerosis .2

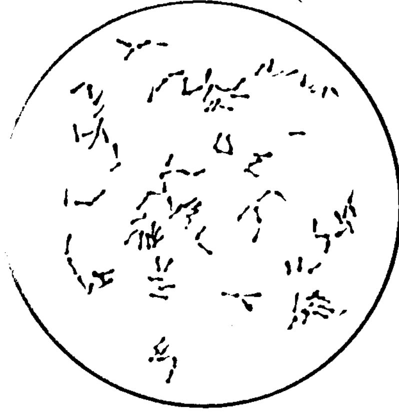
توجد بشكل طبيعي في كيس ملتحمة العين (Conjunctival sac) . تشبه خلايا الدفتيريا إلى حـد بعيـد وتظهـر (Volutin granules) ، تنتـج حامضـاً عنـد تخميرهـا للسكروز والجلوكوز .

Corynebacterium acnes.3

تتحد عادة مع وجود حب الشباب(acne) وتظهر g + ve وشكلها عصوي .

Corynebacterium ovis .4

يمكن عزلها من إفرازات الأنف والبلعوم الانفي (nasopharynx) والقيح (Pus) والجروح والجلد . تشبه عصيات الدفتيريا إلى حد بعيد ، ولكنهما مختلفتان مصلياً حيث أن مضادات السموم (Anti - toxin) للدفتيريا لا تحمي من الإصابة بهذه البكتيريا . وعندها القدرة على جعل الجيلاتين (Gelatin) سائلاً .



شكل عصيات الـ *C. diphtheria*

Listeria

هذا الجنس عضو في العائلة Corynebacteriaceae ، وتمتلك صفات بيولوجية متشابهة . وتعتبر مسببة للأمراض لكل من الحيوانات الأليفة والمتوحشة والطيور وفي بعض الأحيان للإنسان .

عزلت البكتيريا *L. monocytogen* من التربة ومن النباتات الفاسدة ومن الحيوانات الاليفة والمتوحشة ، وقد عزلت من براز لم يظهر أصحابه أعراض إصابات معوية .

تعرف هذه البكتيريا بأنها مسببة للإجهاضات المفاجئة عند الحيوانات وكذلك مسببة لالتهاب السحايا .

ولقد عزلت من حالات مرضية تسببت من تناول أطعمة مطهية وغير مطهية سواء من مصادر حيوانية أو نباتية . وبسبب إمكانية عيش و تكاثر البكتيريا في درجة حرارة الثلاجة وعلى درجات مختلفة من الـ PH لذلك فإن أقل كمية من هذه البكتيريا تكون ذات أهمية طبية .

Listeria monocytogenes

الشكل Morphology

g + ve عصوية ، مستقيمة أو محدبة قليلاً ، تترتب غالباً على شكل أزواج ، النهاية مع النهاية وبزاوية حادة ، ويمكن مشاهدة زوائد طويلة ممتدة في بعض الأحيان . يمكن أن يحدث تغير في الشكل وتصبح مشابهة للبكتيريا الكروية. متحركة غير نشيطة على درجة 37°م ولكنها أنشط على درجة 25°م في Broth culture ، ويمكن أن تظهر g - ve بعد 48 ساعة من الحضانة . يمكن أن تشكل في ترتيبها الأحرف الصينية ، ولكنها لا تحتوي على حبيبات الدفتيريا .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية، درجة الحرارة المثلى هي 37°م . تنمو بشكل جيد على أوساط غنية (Blood agar) . وتكون المستعمرات على الـ (Bood agar). محللة للدم من نوع β – وتتميز بأنها صغيرة جداً ، تشبه قطرات الماء أو الرذاذ (Droplet like) في

البداية ، ولكن بعد عدة أيام تصبح المستعمرات كبيرة الحجم ، شفافة، وبعد ذلك يمكن أن تصبح قاتمة .

الصفات الكيميائية الحيوية Bi●chemical char.

تتلخص في أنها تخمر كلاً من المالتوز والجلوكوز والفركتوز معطية حامضاً ، ولا تخمر الـ Mannitol .

للمزيد من المعلومات ينظر جدول رقم 23 و 24 .

الإصابة Pathogeicitiy :

غالباً ما تظهر الإصابة بهذه البكتيريا في المواليد والنساء الحوامل والأفراد ذوي المناعة المتوسطة . تتراوح المظاهر السريرية بين إنتانات Sepsis والتهاب سحايا في المواليد وذوي المناعة المتوسطة إلى حالة حمية غير محددة في النساء الحوامل ، يمكن حدوث الإصابة عبر المشيمة بسبب نقص في التنظيم المناعي في المشيمة وينتج عن ذلك عدم نضوج الجنين ثم إجهاض تعفني ثم إصابة المولود بالـ Listeria . تتراوح نسبة الوفيات من 3 – 50٪ في الحالات التي تحدث قبيل الولادة وبنسبة 35٪ في الحالات غير المتعلقة بالولادة . عند الإصابة بالتهاب السحايا يصبح سائل النخاع الشوكي CSF متقيحاً ويحدث ارتفاع في نسبة البروتين وعادة لاتتغير نسبة الجلوكوز فيه .

تتعلق الإصابة بالـ Listeria بعوامل عدة منها مناعة العائل وحجم البكتيريا الداخلة للعائل وربما حدة نوع السلالة المهاجمة للعائل .

وقد بدا واضحاً أن حدة الإصابة تعتمد على ثلاثة مركبات موجودة في الخلية هي Phospholipase و hemolysin و Lipopolysaccharide .

	1	2	3	4	5	6	7	8
Motility	+	−	−	−	−	−	−	−
Growth at 5 °C	+	−	−	−	−	−	−	−
Growth at 15 °C	+	+	−	+	D	.	.	.
Gas from glucose	−	−	−	−	+	−	−	+
Carbohydrates, acid from:								
arabinose	−	+	−	d	D	w	−	−
maltose	+	−	+	+	+	+	−	+
melezitose	+	−	−	+	−	−	−	−
salicin	+	−	+	+	−	−	−	−
VP	+	−	−	−	−	−	−	.
Nitrates reduced	−	−	−	−	−	+	+	+

1 **Listeria** spp.
2 **Erysipelothrix** sp.
3 **Lactobacillus** subgenus *Thermobacterium*
4 **Lactobacillus** subgenus *Streptobacterium*
5 **Lactobacillus** subgenus *Betabacterium*
6 **Arachnia propionica**
7 **Actinomyces odontolyticus**
8 **Clostridium welchii** (asporogenous variants)

جدول رقم (23)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Growth at 15 °C	−	−	−	−	+	+	+	d	−	+	+	.	.
Growth at 45 °C	+	+	+	+	d	−	−	−	+	+	−	.	.
Gas from glucose	−	.	−	−	−	−	+	+	+	−	−	−	−
Carbohydrates, acid from:													
arabinose	−	−	−	−	−	d	+	+	d	−	+	w	−
galactose	+	d	−	+	+	+	(w)	+	+	−	+	d	−
lactose	+	−	d	+	d	+	d	d	+	(d)	+	+	+
maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−
mannitol	−	−	−	+	+	+	d	−	−	−	−	w	d
melezitose	−	−	−	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−
melibiose	d	−	−	+	−	+	+	+	+	d	+	w	.
raffinose	d	−	−	+	−	+	d	+	+	−	−	+	−
salicin	+	+	+	d	+	+	−	d	−	+	−	−	−
sorbitol	−	−	−	+	+	+	−	−	−	−	−	−	.
trehalose	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−
Aesculin hydrolysis	+	+	+	d	+	+	d	+	−	+	−	−	.
Nitrate reduction	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+
Arginine hydrolysis	−	+	d	−	−	−	+	+	+	−	+	.	.

1 **Lactobacillus acidophilus**
2 **Lactobacillus jensenii**
3 **Lactobacillus leichmannii**
4 **Lactobacillus salivarius**
5 **Lactobacillus casei**
6 **Lactobacillus plantarum**
7 **Lactobacillus brevis**
8 **Lactobacillus cellobiosus**
9 **Lactobacillus fermenti**
10 **Listeria monocytogenes**; *Listerella monocytogenes*
11 **Erysipelothrix rhusiopathiae**; *E. insidiosa*
12 **Arachnia propionica**; *Actinomyces propionicus*
13 **Actinomyces odontolyticus**

جدول رقم (24)

التشخيص المختبري Lab. diagnosis

تجمع عينات من سائل النخاع الشوكي CSF والدم وترسل للمختبر لغايات الزراعة والعزل وتخضع للإجراءات التالية :-

1. الزراعة على Blood agar : إن ظهور مستعمرات صغيرة ناعمة شفافة إلى رمادية مع تحلل دم من نوع β وظهور حلقة ضيقة مؤشر على احتمال أن البكتيريا هي *Listeria monocytogenes* رغم أنها مشابهة لصفات مستعمرات الـ β - hemolytic strep.
2. عمل لطخات على شرائح زجاجية وصبغها بطريقة جرام ، إن ظهور خلايا g + ve ، عصوية ، قصيرة لا تحتوي على أبواغ ومتحركة ذات أهمية تشخيصية .
3. اجراء فحوصات الصفات الكيميائية الحيوية حيث تحلل الـ Na - hippurate وتعطي نتيجة إيجابية فحص CAMP ونتيجة إيجابية مع Catalase وتحليل Esculin يكون إيجابياً .

MYCOBACTERIUM

لقد عرف منذ القديم أن الإصابة بهذه البكتيريا قد اشتمل على العظام سواء في الانسان أو الحيوان . وقد أطلق على هذه الإصابة "بالطاعون الأبيض" الذي فتك بجزء كبير من الشعوب الأوروبية . وبناء على تقارير منظمة الصحة العالمية WHO فإن مرض السل يقضي على ثلاثة ملايين إنسان سنوياً في الدول النامية .

إن النوع *M. tuberculosis* هو واحد من 54 نوعاً معروفاً تتبع لهذا الجنس ، 14 نوعًا منها معروف بتسببه لأمراض عند الإنسان . ففي الولايات المتحدة لأول مرة منذ عام 1953 حصلت زيادة في نسبة الإصابة بالسل مقدارها 1.1٪ .

وفي عام 1986 استمرت الزيادة في معدل الإصابات حتى ظن بأن للحالة علاقة بمرض العون المناعي المكتسب AIDS .

وفي عام 1992 سجلت 28000 حالة سل بزيادة مقدارها 10٪ عام 1991 .

صنفت أنواع الـ Mycobacteria على أساس إنتاجها للإصابة وتاريخها الطبيعي واشتمل على :

1. ضار إجباري Obligate pathogen حيث تسبب أمراضاً للإنسان .
2. ضار اختياري Facultative pathogen حيث توجد بشكل رئيسي في الحيوانات أو البيئة ولكن تسبب إصابات عند الإنسان .
3. ضار انتهازي وفعال potentially opportunistic pathogen وتوجد في البيئة ولكن يسبب إصابات عند الإنسان .
4. غير ضار ويوجد في الطبيعة ولا يسبب إصابات عند الإنسان .

وقد صنفت البكتيريا المسببة للأمراض عند الإنسان على أساس العضو أو الجهاز المصاب إلى ما يلي :

أ. إصابة العيون وتسببها *M. fortuitum* و *M. chelonae*

ب. إصابة القناة الهضمية وتسببها *M. bovis* و *M. avium* و *M. intracellulare* و *M. paratuberculosis*

ج. إصابة الجلد وتسببها *M. leprae* و **M. marinum** و *M. haemophilum* و *M. fortuitum* و *M. chelonae* و *M. ulcerans* و *M. smegmatis* و *M. thermoresistibile* .

د. الإصابة الرئوية وتسببها *M. tuberculosis* و *M. africanum* و *M. kansasii* و *M. asiaticum* و *M. scrofulaceum* و *M. szulgai* و *M. xenopi* و *M. avium* و *M. intracellulare* و *M. malmoense* و *M. fortuitum* و *M. chelonae* و *M. thermoresistibile* .

ه. الأصابة التناسلية وتسببها *M. leprae* و *M. tuberculosis* و *M. avium* و *M. intracellulare* و *M. xenopi* .

و. إصابة الجهاز الوعائي الدموي والعقد اللمفاوية وتسببها **M. tuberculosis** و **M. avium** و *M. intracellulare* و *M. kansasii* و *M. leprae* و *M. scrofulaceum* و *M. fortuitum* و *M. chelonae* و *M. haemophilum* *"M. genavense"* .

ز. الإصابة العصبية وتسببها *M. leprae* و *M. tuberculosis*

تتفاوت الـ **Mycobacteria** بين أن تكون **Coccobacilli** إلى أن تكون عصوية رفيعة طويلة .

إنه لمن الصعب صبغ البكتيريا ولكن إذا صبغت سيكون من الصعب إزالـة الصبغـة حيث تقاوم إزالتها بالحامض أو بالكحول، ولذلك فإنها تسمى **Acid - Fast Bacilli (AFB)**. ومن أهم أعضاء هذا الجنس هو ***M. tuberculosis*** .

الشكل **Morphology** :

بكتيريا عصوية الشكل رفيعة مستقيمة أو منحنية قليلاً . ويمكن أن تظهر في الأنسجة منفردة أو على شكل أزواج أو على شكل حزم صغيرة مكونة من عصويات متوازية . هي غير متحركة ، لا تحتوي على أبواغ ، ولا تحتوي على محفظة .

في النمو القديم **(Old culture)** ، تنمو الخلية لتصبح زائدة طويلة وتظهر تفرعات وتشعبات **Branching** .

تملك القدرة على مقاومة الجفاف ، وذلك بسبب احتوائها على كميات كبيرة من الدهون .

عند صبغها تظهر الـ **Tubercle bacilli** صعوبة في تقبل الصبغة ، ولذلك يلزم استخدام صبغة قوية مع مثبت مثل **(Carbol Fuchsin)** .

عند صبغها بطريقة جرام تظهر **gram + ve** ، ولكن لا تظهر هذه الصفة إلا بصعوبة شديدة ، وعندما يتم صبغها فإنه من الصعوبة إزالة الصبغة باستعمال 20 – 25٪ من حامض الكبريتيك أو النيتريك . ولذلك يستعمل 3٪ من حامض الكلوردريك في 95٪ إيثنول .

Acid - Fast Staining (Ziehl - Neelsen (Z.N.) Method)

المحاليل المطلوبة :

1) (Ziehl - Neelsen's) وهو عبارة عن (Carbol Fuchsin) ، قوي ، ويتكون من :

Basic fuchsin	**10 gm.**
Absolute alcohol (ethanol)	**100 ml.**
Phenol sol. (5% in H 2O)	**1000 ml.**

أذب الصبغة في الكحول وأضف إلى محلول الفينول .

2) حامض الكبريتيك (H 2 SO 4) Sulpharic acid - محلول 20٪ :

800 سم3 من الماء + 200 سم3 من حامض الكبريتيك 98٪ (أضف الحامض إلى الماء بلطف وبطء شديد) .

3) 95٪ الكحول (95 سم3 من الكحول المطلق + 5سم3 من الماء) .

4) (Counter Stain) (مضاد للصبغ) = الصبغة البديلة

محلول مشبع من Methylene blue في الكحول – (300 مللتر) .

هيدوركسيد البوتاسيوم 0.1٪ في الماء – (1000 مللتر) .

يستعمل هذا المحول الخليط لإظهار الخلايا وبعض التركيبات وتشتمل الخلايا على البكتيريا الـ Non- acid fast حيث يتم إزالة لونها بالحامض والكحول .

خطوات العمل Procedure

1. اغمر الشريحة باستعمال (Carbol fuchsin) مصفى ، وسخن حتى يصعد البخار ، انتظر لمدة خمس دقائق حتى تصبغ الشريحة .

2. اغسل باستعمال الماء .

3. اغمر الشريحة باستخدام 20٪ حامض الكبريتيك ، حيث سيتغير اللـون الأحمـر إلى لـون بني مصفر ، بعد حوالي دقيقة اغسل بالماء وصب الحامض مرة أخرى ، أعد هذه العملية عدة مرات ، والهدف من الغسيل بالماء هو إزالة المركب النـاتج مـن اتحـاد الحـامض مـع الصبغ والسماح لحامض جديد وطازج للدخول داخل التحضير . وتنتهـي عمليـة إزالـة اللون بعد الغسيل بالماء حيث يكون التحضير أو الفيلم ذا لـون زهـري فـاتح . تتطلـب عملية إزالة اللون الاتصال بحامض الكبريتيك لمدة عشر دقائق .

4. اغسل الشريحة بالماء جيداً .

5. أضف 95٪ الكحول ولمدة دقيقتين . وهذه الخطوة اختيارية يمكن حذفها .

6. اغسل بالماء .

7. اسـتعمل الصبغـة المضـادة (Counter stain) ، وهـي عبـارة عـن (Loffer's methyene blue) أو صبغة مخففة من (Malachite green) ولمدة 15–20 ثانية .

8. اغسل الشريحة وجففها بعدها تكون الشريحة جاهزة للفحص .

جدول رقم (25)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Catalase (method 3: > 45 mm)	−	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
Pigment in light	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Pigment in dark	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+	−
Growth < 3 days	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+	+	−	+
Growth at 25 °C	−	−	d	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+
33 °C	+	.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37 °C	+	+	+	+	+[a]	+	−	d	+	+	+	+[b]	+
45 °C	−	−[c]	d[d]	−	−	−[d]	−	−	−[c]	+	+	−	d
52 °C	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
Growth on MacConkey	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−
Growth on 5 % NaCl	−	−	−	−	−	+	.	−	D[e]	+	+	−	−
Nitrate reduced	+	−	−	+	−	+	−	−	−	+	+	−	d
Urease	+	+	−	+	+	+	.	+	+	+	+	d	d
Tween hydrolysed	d	−	−	+	−	d	−	+	−	+	+	d	.
Niacin produced	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	.

1 **Mycobacterium tuberculosis;** human type of tubercle bacillus
2 **Mycobacterium bovis;** bovine type of tubercle bacillus
3 **Mycobacterium avium;** *M. intracellulare*; avian type of tubercle bacillus
4 **Mycobacterium kansasii**
5 **Mycobacterium serofulaceum;** *M. marianum*
6 **Mycobacterium fortuitum;** *M. minettii*; *M. peregrinum*
7 **Mycobacterium ulcerans**
8 **Mycobacterium marinum;** *M. balnei*
9 **Mycobacterium chelonei;** *M. borstelensis*
10 **Mycobacterium phlei**
11 **Mycobacterium smegmatis**
12 **Mycobacterium gordonae;** *M. aquae*; tap-water scotochromogen
13 **'Mycobacterium' rhodochrous;** *Jensenia canicruria*; *Corynebacterium equi.*

[a] Positive at 39 °C.
[b] Negative at 39 °C.
[c] Negative at 42 °C.
[d] Positive at 42–43 °C.
[e] *M. chelonei* divided into two varieties; one NaCl +, the other NaCl −.

الصفات الزراعية .Cultural char :

هوائية ، متوسط درجة الحرارة هي 30 – 41 مئوية والمثلى 37°م ، لا تنمو على الأوساط العادية ، مبدئياً يمكن الحصول على نمو من على Blood agar أو Serum agar أو أوساط تحتوي على جميع أجزاء البيضة (Egg) أو صفار البيض (Egg yolk) .

يكون النمو بطيئاً ويستغرق 10 – 14 يوماً كحد أدنى وكحد أعلى تحتاج إلى 6 – 8 أسابيع . يمكن استعمال أفضل الأوساط وهو (Glycerol - egg media) ، ومثال ذلك Lowenstein - Jensen المضاف إليه صبغة (Malachite green) القاتلة للتلوث والمانعة له .

ويتصف النمو على هذه الأوساط بأنه جاف ، غير منتظم ، خشن (Tough) متجعد (Wrinkled) ، وأبيض في البداية يذهب اللون الأبيض ويصبح أصفر برتقالياً (Buff) ، ليس هناك صفات كيميائية حيوية مستعملة للتحقق من أو تصنيف الـ (Tubercle bacilli) . ولكن لمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 25 .

الإصابة Pathogeniclty :

إن استنشاق خلية حية واحدة كفيل بإحداث الإصابة مع العلم بأن الاتصال المباشر ضروري لانتقال العدوى .

قد تظهر الأعراض بعد سنوات من التعرض للمرض ، عندما يحدث خلل في الجسم لأي سبب فتصبح الفرصة مهيئة لتكاثر البكتيريا و لظهور الأعراض ويحدث تطور للمرض في نسبة قليلة من المصابين بحيث يصبح المرض جهازياً ومنتشراً إلى أعضاء أخرى في الجسم .

أن أكثر حالات الإصابة شيوعاً بسبب هذه العصيات هي الإصابة الرئوية (Pulmonary lesion) ، والتي تسمى (Primary comlex) . تحدث الإصابة نتيجة لدخول البكتيريا مع هواء الشهيق حيث تكون محمولة مع جزئيات الهواء الصغيرة وتصل إلى الشعيبات الهوائية الطرفية (Terminal bronchoiles) أو إلى الحجرات الهوائية (Alveoli) ، ويمكن لموقع الإصابة أن يظهر في منطقة أو جزء من الرئتين . ويمكن أن تحدث إصابة في محتويات الصدر باستثناء الرئتين (Mediastinal) بوساطة الأوعية اللمفاوية ، وينتج عن ذلك التحبب (Caseation)،والتكلس (Calcification) ، وبعد ذلك ينتشر المرض ليشمل إصابة الأعضاء المجاورة للرئتين مثل الدماغ (Brain) والسحايا (Meninges) وينتج التهاب السحايا السلي (Tuberculous meningitis) ، والطحال (Spleen) ، والكبد (Liver) ، والجهاز البولي والعظام والمفاصل (Joints) ، ويتم الانتشار عن طريق مجرى الدم .

التشخيص المخبري Lab. diagonsis :

أ- الفحص المجهري :

1. اللطخة المباشرة (Direct smear) : حضر اللطخة من البلغم المتقيح (Purulent sputum) واصبغها بوساطة (Acid - fast staining) . وكن حريصاً على أن لا تلامس العدسة الشيئية الشريحة لان عصيات السل تنتقل بسهولة ، وكذلك كن متأكدا من تنظيف العدسة بعد الانتهاء من العمل بواسطة القطن .
2. يمكن استخدام البول بعد أن يرسب على جهاز الطرد المركزي ويؤخذ الراسب ويحضر منه لطخة على شريحة وتصبغ بطريقة (Ziehl - Neelsen) .
3. يمكن جمع سائل النخاع الشوكي .C.S.F ، وينتظر لمدة ساعة ، وإذا تكونت جلطة يمكن تحضير شريحة منها وتصبغ بنفس الطريقة السابقة ، وإلا فيرسب السائل بإستخدام

جهاز الطرد المركزي ويؤخذ من الراسب وتحضر لطخة على شريحة وتصبغ بنفس الطريقة . وإذا إشتبه بالسل المعوي فتحضر لطخة من البراز وتصبغ بنفس الطريقة .

4. يمكن جمع عينات من الجهاز التناسلي لعزل انواع من Mycobacteria حيث عزلت من عينات السائل المنوي والحويصلات المنوية وغدة البروستات والخصية وقد جمعت عينات كثيرة من مرضى الـ AIDS وقد يحتاج التشخيص إلى زراعة وفحص نسيجي وبتحضير لطخات مجهرية وصبغها بطريقة .Z.N يمكن الكشف عن وجود الـ AFB .

5. الصبغ بالفلورسين : تعتبر طريقة مسحية حيث تظهر عصيات السل لامعة فوق خلفية معتمة . وتفحص الشريحة تحت عدسات ذات تكبير منخفض وبالتالي يتمكن الفني من كشف حقول مجهرية كثيرة في وقت قصير وعند ظهور نتيجة سلبية فلابد من استخدام صبغة .Z.N وفحص مالايقل عن 100 حقل قبل اعطاء نتيجة سلبية .

6. استخدام صبغة Kinyoun : تشبه هذه الطريقة طريقة .Z.N ولكن لايستخدم فيها التسخين ولذلك تسمى بالصبغة الباردة Cold stain وتظهر الخلايا بنفس الصفات التي تظهر فيها عند استخدام صبغة .Z.N .

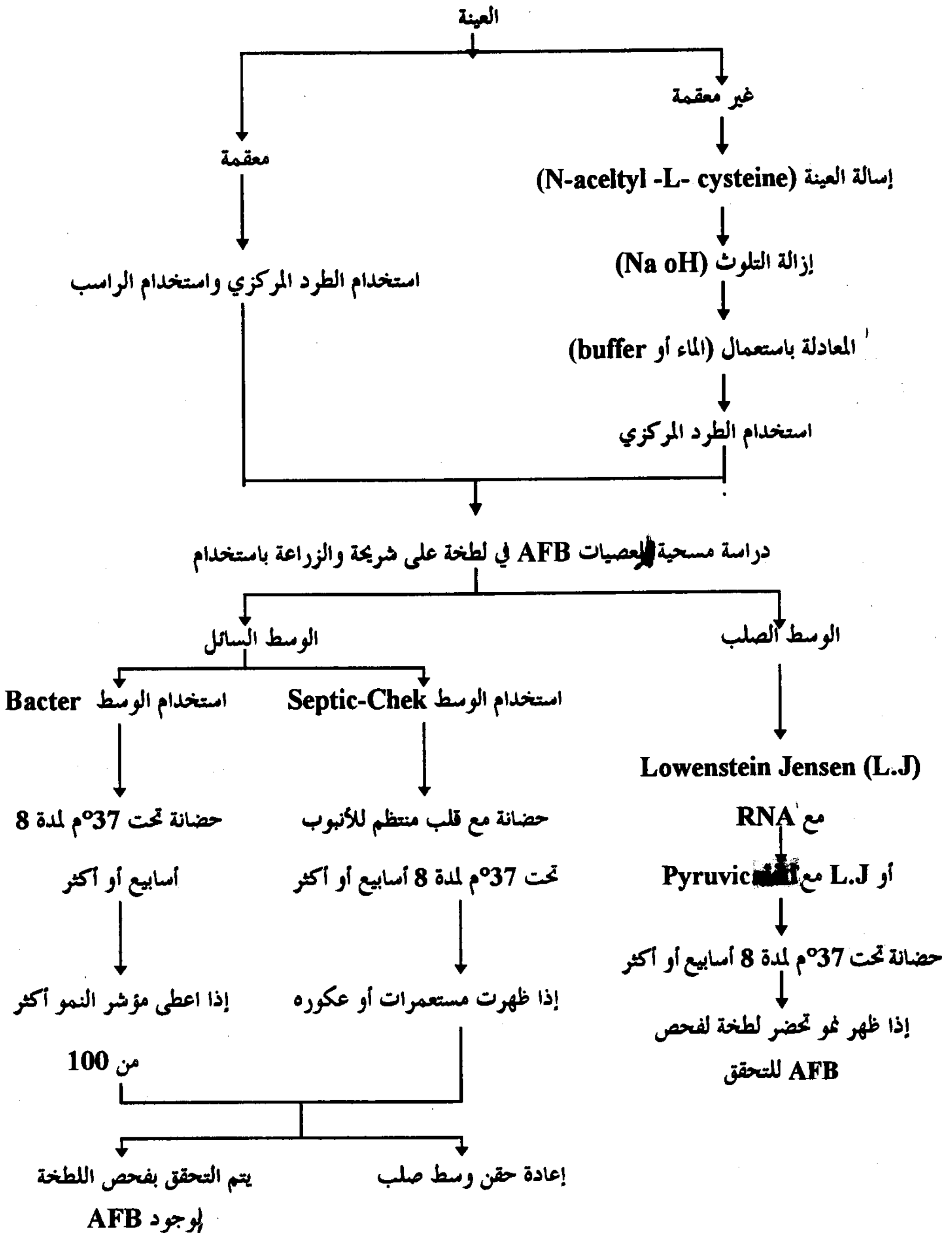
ب- الزراعة Culture :

إذا شوهدت عصيات السل في الفحص المجهري فان العينة التي جمعت تزرع على الاوساط المناسبة مثل Lowenstein - Jensen media . يجب اخذ الحيطة والحذر الشديدين عند التعامل مع عينات مرض السل خوفاً من إنتقال الإصابة عن طريق التلوث .

ويمكن اتباع المخطط التالي لعزل مسبب مرض السل .

جـ - الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char

يمكن اجراء العديد من الاختبارات الكيميائية الحيوية لتأكيد نتائج الزراعة والصفات الشكلية والمعتمدة على تغير اللون . ويشترط لذلك حدوث نمو جيد للبكتيريا ومن صفاتها أنها تعطي نتائج إيجابية Niacin Test و الـ Nitrate ونتيجة سلبية مع الـ Catalase تحت 68°م وتحليل الـ Tween 80 واختزال الـ Tellurite .



العلاج Treatment :

يمكن استعمال Streptomycin و (Para Amino Salicylic Acid) (P.A.S.A) .

Mycobacterium leprae

تعتبر الإصابة بـ *M. leprae* في المرتبة الثانية بعد الإصابة بـ *M. tuberculosis* حيث تسبب مرض الجذام المسمى بمرض هانسن **Hansen's disease**. المرض المزمن الذي يصيب الجلد والأغشية المخاطية ، والأنسجة العصبية .

الشكل Morphology :

عصيات رفيعة مستقيمة أو محدبة قليلاً . غير متحركة ، ولاتحتوي على أبواغ ، **Acid fast** ، ولذلك تحتاج إلى صبغ قوي ولكن أقل من عصيات السل **Tubercle bacilli** . يمكن أن يتم صبغها بصبغة جرام وتظهر **g + ve** .

الزراعة Cultivation :

لقد تمت عدة محاولات بوساطة كثير من العاملين والباحثين لتنمية هذه البكتيريا إلا أن غالبية هذه المحاولات باءت بالفشل .

الإصابة Pathogenicity :

مرض الـ **Leprosy** (الجذام) عبارة عن ورم حبيبي **Infective granuloma** ، ويتطور حسب الخطوات التالية :

1. تظهر العقد **Nodular type** في الجلد والغشاء المخاطي وأعضاء أخرى مثل الرئتين ، والكبد ، والطحال والخصيتين ... الخ .
2. **(Tuberculoid type)** ، حيث تبدأ الأنسجة المتحببة في التسلل إلى عدة أعصاب وتؤدي إلى شلل الإحساس والإدراك . ويمكن ظهور النوعين في نفس الوقت وفي نفس

المرض . وتكون البكتيريا موجودة في المواقع المتحببة Granulomatous lesion وتكون بأعداد كبيرة في العقد .

التشخيص المختبري Lab. diagonosis

تحضير اللطخة من أي عقدة متقيحة من على الجلد ، ويمكن عصر العقد غير المتقيحة بعد فتحها وثقبها باستعمال إبرة . والطريقة الصحيحة المناسبة أكثر هي إزالة قطع الجلد التي تغطي العقد وتحضير الشريحة من السطح العميق في الداخل . ويمكن استعمال البلغم (Sputum) عندما تكون الإصابة رئوية . اصبغ الشريحة بطريقة (Ziehl Neelsen) حيث سيكون لوجود الـ (Acid fast bacilli) أهمية تشخيصية ، وللتميز بين T.B. (Tubercle bacilli) و *M. leprae* يمكن استخدام طريقة Z.N. المفرقة Differential Ziehl Neelsen للشريحة .

الطرائق الحديثة في تشخيص الـ Mycobateria

لقد تم اكتشاف طرائق جديدة لتشخيص هذه البكتيريا بسبب زيادة عدد الفحوصات وصعوبتها اللازمة لتشخيصها والوقت الطويل اللازم لنموها وقدم هذه الإجراءات .

لتلك الأسباب مجتمعة فقد حلت تقنيات الوصف التلوني ذات الطبقة الرقيقة (TLC) Thin - Layer chromatography وتقنية الوصف التلوني ذات الغاز السائل (GLC) Gas - liquid chromatography كبديل منطقي لنظام التشخيص وذلك بفضل مساعدة دهون جدار الخلية في تلك التقنيات .

وقد استخدمت تلك التقنيات من قبل عدد من الباحثين ليس بقليل لتشخيص البكتيريا المعزولة من العينات الطبية المرضية ، وقد أثبتت معالجة الحامض النووي للـ Mycobacteria بـأنزيم endonuclease وتقنية الترحيل الكهربائي في الأجار أو

الجيلاتين gel electrophoresis فاعلية فصل العصيات إلى مستوى النوع Species علماً بأن هذه الفحوصات لم يصل استخدامها إلى مستوى العمل الروتيني في مختبرات علم الأحياء الدقيقة ولكن يحدث ذلك في بعض المختبرات المرجعية .

من التقنيات الحساسة جداً والسريعة في تشخيص نوع الـ Mycobacteria تقنية الوصف التلوني ذات السائل عال الكفاءة High - performance liquid chromatography (HPLC) والتي استخدمت في كثير من المختبرات في الآونه الأخيرة ، والتي تحتاج إلى عدد من الساعات لإنجازها . واستطاعت تقنية HPLC فصل السلسلة الطويلة للـ Mycolic acid أكثر من GLC حيث لا تحتاج إلى التعرض لدرجات الحرارة المرتفعة كما يحدث في GLC .

واستخدمت التقنيات المعتمدة على التفاعلات المصلية مثل ELISA في تشخيصها مع الاحتفاظ بالتخصصية والحساسية والسرعة .

واستخدمت طرق تهجين الحامض النووي DNA حديثاً لتشخيص هذه البكتيريا من العينات الطبية خلال ساعات من الحصول على نمو جيد . وشجعت النتائج كثيراً من المختبرات على استخدامها .

تشير التقارير خلال عام 1993 أن التقنية الجديدة Polymerase (PCR) chain reaction والفحص المجهري التقليدي قد أعطيا أملاً مشجعاً للاستخدامات السريعة في تشخيص الـ Mycobacteria على مستوى من الحساسية لم يعهد من قبل، حيث أن نتائج الـ PCR والفحص المجهري لراسب العينة قد أعطيا نسبة 100٪ في تشخيص المرضى المصابين بالسل .

مما حدا بمعظم المختبرات الطبية التي تعتبر السرعة والدقة من أولوياتها في تشخيص السل استغلال هذا التطور في سرعة وحساسية الفحص إلى تطبيق هذه التقنيات الحديثة .

CLOSTRIDIUM

يتبع هذا الجنس إلى البكتيريا العصوية اللاهوائية الـ **Anaerobic (g + ve) bacilli** وهذا الجنس الذي يتميز بأهمية طبية للإنسان تنتج أنواعه أبواغاً داخلية وهو الـ **Clostridium** .

يوجد أجناس أخرى عصوية لاهوائية **g + ve** ولكن لا تنتج ابواغاً وهي **Bifidobacterium** و **Actinomyces** و**Eubacterium** و**Lactobacillus** و **Propionibacterium** و **Mobilunus** . وتعتبر بعض هذه الأجناس أعضاء في الساكن الطبيعي للتجويف الفموي والقناه الهضمية والقناه البولية التناسلية والجلد .

ينتج بعض أنواع الـ **Clostridium** سموماً تهدد حياة الإنسان بالموت بينما تتواجد البكتيريا الأخرى من غير المنتجات للأبواغ في الإصابات المزمنة .

تتميز أعضاء الجنسين **Actinomyces** و **Lactobacilli** ببطيء النمو وضرورة توفر الظروف اللاهوائية الاختيارية **Facultative anaerobes** . يوجد أربعة أنواع تابعة للجنس **Clostridium** تتحمل وجود الأكسجين **aerotolerant** ومن الصعب تمييزها عن البكتيريا العصوية الهوائية مثل **Lactobacilli** حيث أنها لا تنتج أبواغاً ، تحت الظروف الهوائية .

يعتمد تمييز أنواع البكتيريا اللاهوائية غير المنتجة للأبواغ على منتجاتها الاستقلابية **metabolic end products** .

يتبع للجنس **Clostridium** أكثر من 120 نوعاً تم وصفها ودراستها . يتواجد البعض منهافيالتربة والوحل والبعض الآخر يسكن طبيعياً في أمعاء الإنسان والحيوان ولذلك فإن معظم الإصابات تكتسب داخلياً من الجسم . يعتبر معظم أنواع الـ **Clostridia** لا هوائية مجبرة باستثناء البعض الذي ينمو على أوساط غنية في الهواء مثل ***Cl. tertium*** و ***Cl. histolyticum*** و ***Cl. carnis*** و ***Cl. durum*** .

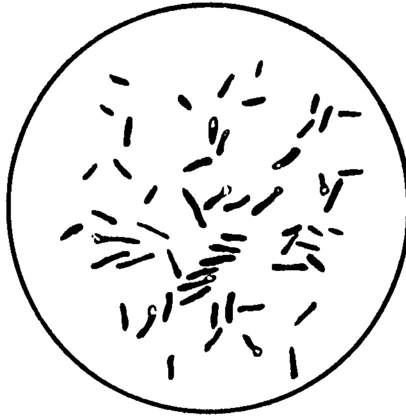
لقد أدمجت حديثاً جميع أنواع ***Cl. botulinum type* G** وبعض سلالات ***Cl. hastiforme*** و **Cl. subterminale** في النوع ***Cl. argentinense*** . وجمعت الأنواع ***Cl. perenne*** و ***Cl. paraperfringens*** في النوع ***Cl. baratii***

Clostridium tetani

وهذه مسببة لمرض الكزاز (Tetanus) للإنسان والحيوان .

الشكل **Morphology**

عصويات رفيعة مستقيمة ، أو قد تكون كبيرة جداً أو قصيرة دائرية أو طويلة ، وتظهر مثل مضرب التنس متحركة وتحتوي على أسواط كثيرة وطويلة تحيط بجسم الخلية ، والحركة ليست نشيطة ، عندها القدرة على إنتاج الأبواغ وقد تكون مركزية أو طرفية أو شبة طرفية الموقع . وهي g + ve ، ويمكن اعتبارها متغيرة بحيث يمكن ظهورها g - ve خاصة في الزراعة داخل الأوساط السائلة **Broth culture** .



الصفات الزراعية **Cultural char.** :

هذه البكتيريا لا هوائية مجبرة **(Obligate anaerobe)** ، متوسط درجة الحرارة 14 - 43°م والمثلى هي 37°م . تنمو على الأوساط العادية **(Nutrient agar)** ، ولكن تنمو بشكل أفضل على **(Cooked meat media)** .

تتصف المستعمرات على سطح الأوساط الصلبة لعصيات الكزاز المتحركة بأنها على شكل نتوءات طويلة متشعبة وكبيرة الحجم ويمكن لهذا النمو الناعم أن يمتد فوق جميع أنحاء طبق الوسط . وتكون مستعمرات بعض الأنواع صغيرة محدبة وغير محللة للدم وحافتها كاملة وقد تظهر مستعمرات النوع الواحد مختلفة الشكل وكأنها ليست نمواً نقياً .

الصفات الكيميائية الحيوية .Bioch - char :

لمعرفة الصفات الكيميائية الحيوية ينظر جدول رقم 26 .

السموم Toxins :

على درجة 35°م ولمدة 5 – 14 يوم يمكن ظهور السموم عند زراعتها على الأوساط السائلة، ونوع السم الذي تفرزه هذه البكتيريا يختلف من سلالة إلى أخرى وكذلك يختلف باختلاف نوع الوسط وأفضلها (Mueller & Miller) .

هناك سم آخر غير (Tetanospasmin) هو (Tetanolysin) والذي يسبب تحللاً لكريات الدم الحمراء ، ويعتبر سم الكزاز قوي التأثير ويأتي بعده السم الخارجي للـ *Cl. botulinum* تنتقل هذه البكتيريا من التربة إلى الإنسان عبر الجروح الموجودة في جسمه المكشوف والمعرضة للاتصال بالتربة وتنتقل داخل الجروح ومن خلال مجرى الدم تصل وتستقر في الخلايا العصبية خاصة في أعصاب الرقبة والفكين ويسبب ذلك انقباضات في الفكّين وكل ذلك بسبب السموم التي تفرزها هذه البكتيريا .

التشخيص المخبرى Lab. diagonsis

يمكن عمل لطخة على الشريحة من إفرازات الجروح وصبغها بطريقة جرام . يمكن عمل زراعة مباشرة على Blood agar حيث توضع في الحاضنة وتحت ظروف لا هوائية وهذه هي الطريقة المفضلة لعزل الـ *Cl. tetani* .

Gas gangrene

لقد وجدت عدة أنواع مـن الـ Clostridium في حالـة الغنغرينـة الغازيـة وهـي *Cl. perfrengens type A* تسـمى *Cl. welchii* و *Cl. novyi typeA* و *Cl.* و *Cl. septicum* و *Cl. bifermetans* و *Cl. histolyticum* و *Cl. sordellii* و *Cl.* و *Cl. sporogenes* والثلاثة أنواع الأولى هي الأهم في هذا المرض .

الشكل والصفات الزراعية Morphology & cultural char. :

تشبه هذه البكتيريا من الناحية الشكلية شـكل وصفـات *Cl. tetani* وقـد تظهـر أحياناً مثل شكل صندوق السيارة ، وكذلك فإن الصفات الزراعية مطابقة تقريباً لمـا هـو في حالة *Cl. teani* ولكن تعطي تحللاً كاملاً للدم β - hemolysis .

السموم Toxins والإصابة Pathogenicity

تكون العدوى اما داخلية المصـدر أو خارجيـة ووصـول البكتيريـا للـدم يحصـل في 15٪ من حالات الإصابة . تنتج هذه البكتيريا أنواعاً مختلفة من السموم تسـاعد في نشـرها للمرض ، وكثير من هذه السموم لها تأثير قاتل علـى الأنسـجة وبعـض التأثـير علـى الـدم . ومثال هذه السـموم Alpha toxin مـن النـوع (A) وهـو عبـارة عـن Lecithinase و Theta toxin الـذي يؤثـر علـى الـدم ويـؤدي إلى غيـاب أو تشـويه في الخلايـا البيضـاء WBC وموت الأنسـجة وأنزيـم الـ (Collagenase) الـذي يهضـم الـ (Collagen) الموجود في الأنسجة والعضلات، وكذلك Hylauronidase و Dnase و Neurominidase و β – toxin و تفرز بعض السلالات السم المعوي enterotoxin الذي يسبب نوعاً مـن التسمم الغذائي ومن خلال الجروح الملوثة ينتشر خلال 1–3 أيـام لينتـج طقطقـة و فرقعـة Crepitation في الأنسجة تحـت الجلديـة و إفـرازات أو خراجـاً ذا رائحـة كريهـة عفنـة ويتطور بسرعة إلى موت نسيجي موضعي ، ثم تظهر الحمى و تسمم الدم والصدمة فالموت.

الصفات الكيمائية الحيوية Biochemical char. :

للتفاصيل ينظر الجدول رقم 26

التشخيص المخبري Lab. diagnosis:

تجمع العينة من الجروح و القيح والأنسجة :

1-تحضر لطخة على شريحة من العينات و تصبغ بطريقة جرام وتشاهد تحت المجهر بحيث يعتبر وجود عصيات g+ve كبيرة تحتوي على أبواغ نقطة تشخيصية لحالة الغنغرينة .

2-الزراعة : تحقن العينة على الوسط **Cooked chopped meat** و **Thioglycolate media** و **Blood agar plate** حيث في الحاضنة تحت ظروف لاهوائية، وينقل النمو الحاصل إلى الحليب ، فتتكون جلطة سرعان ما تتفتت بوساطة الغاز خلال 24 ساعة بسبب وجود الـ *Cl. perfrengens* . يمكن عزل أنواع الـ **Clostridia** باستخدم أوساط اختيارية مثل **(PEA) phenyethyl alcohol** أو **Colistin and nalidixic acid agar (CNA)** . ولكن لا تنمو الأنواع *Cl. perfrengens* و *Cl.septicum* على **CNA** وإضافة **agar%5** يمنع النمو من الإنتشار. وعند الحصول على نمو نقي تعمل التجارب الكيميائية الحيوية للتحقق منها . ويمكن التحقق من نشاط أنزيم الـ **Lecithinase** بتكون راسب حول المستعمرات النامية على **Egg yolk media** وإنتاج أنزيم **Lipase** اللذين يظهران بشكل ثابت من قبل **Cl. novyi** .

وأخيراً يمكن تفاعلات بين الأنتجين والأجسام المضادة ، ويشتمل ذلك على إنتاج السموم ومعادلتها **Neutralization** بمضاد للسموم **Anti - toxin** في أنبوب الاختبار .

Clostridium Botulinum

الشكل (Morphology)

تشبه صفات الأنواع الأخرى إلا أنها تختلف في أن عصياتها أكبر ومتعددة الأشكال وأبواغها بيضاوية غالباً ما تكون شبه طرفية الموقع .

الصفات الزراعية (Cultural Char.)

تشبه صفات الأنواع السابقة الذكر إلا أنها تختلف عنها في أن مستعمراتها على **Blood Agar** كبيرة غير منتظمة معتمة مع مركز بارز وعادة تحلل الدم مثل مسببة الكزاز والغنغرينة . وعلى وسط **Cooked meat** فإنها تنتج غازاً يختلف باختلاف الأنواع ونشاطها المحلل للبروتينات .

الصفات الكيميائية الحيوية (Biochemical Char.)

ينظر جدول رقم (26) .

الإصابة Pathogenicity

تسمى الإصابة بهذا النوع من البكتيريا بـ**Botulism** وهذا يعني تسمماً غذائياً قاتلاً بسبب إفراز السموم الخارجية ذات التأثير على الشطر شبيه الودي من الجهاز العصبي الذاتي مثل شلل في العصب البولي والعصب البلعومي وغيرها . لقد صنفت ستة أنواع من هذه البكتيريا تختلف عن بعضها البعض في التركيب الأنتجيني للسموم وهذه الأنواع هي **A ، B ، C ، D ، E ،F** . وأكثر الأنواع تسبباً للإصابة في الإنسان هي الأنواع **A، B ،E** .

تنتقل العدوى من تناول بعض الأطعمة الملوثة المحفوظة مثل اللحوم والنقانق والخضار المعلبة ويظهر في السمك .

وقد وجد في بعض الحالات النادرة أن أنواعاً أخرى تنتج السموم العصبية من النوعين F و E . وتسبب حالة التسمم الغذائي وهذه الأنواع هي *Cl. butyricum* و *Cl. baratii* .

ورد في كتاب **Bailey & Scott's** ، **Diagnostic Microbiology** طبعة عام **1994** . بأن هناك حالتين إضافيتين تتسببان من أنواع الـ **Clostridium** بالإضافة للحالات الثلاث المذكورة سالفاً وهي :

1- التهاب القولون والإسهالات المرتبطة بالمضادات الحيوية ، تكون معظم الحالات مسبوقة بالمعالجة أو التحسس بالمضادات الحيوية مع العوامل **β-lactam** والمضاد **Clindamycin** .

إن المسبب الأساسي لهذه الحالة المرضية هو النوع *Cl. difficile* ونادراً ما تكون *Cl . Perfrengens type c* أو انواع اخرى منها أو مكونات العنقودية *S. aureus* . تنتج معظم سلالات *Cl. difficile* سمية على الأقل هما **Cytotxin B** السم الضار للأنسجة والثاني السم المعوي **Enterotoxin A** الذي يساعد على إفرازات السوائل ودمار الخلايا البطانية للأمعاء .

ومن المحتمل أن تحدث حالة الإسهال المعتدلة دون التهاب قولون بعد تعاطي المضادات الحيوية . تتميز هذه البكتيريا *Cl. difficile* بإعطائها مستعمرات زجاجية ذات خلفية صفراء على الوسط الاختياري **cycloserine - cefoxitin fructose agar (CCFA)** وعلى **B.A** تكون مستعمراتها صغيرة وذات لون أخضر مصفر مزهر .

2- إصابات متنوعة : يعتبر النوع *Cl. perfrengens* وأنواع أخرى ، من أكثر البكتيريا تكراراً في العزل من خليط من الإصابات شبيهة بالحالات التي تسببها البكتيريا اللاهوائية .

ومن هذه الحالات التهاب داخل البطن والتهاب الجروح بعد العمليات الجراحية ، والالتهابات المتعلقة بالأمراض والجراحات النسائية والتهاب الأنسجة اللينة . ومن النادر عزل هذه البكتيريا من إصابات رئوية أو دماغية . تسبب الـ ***C. Perfrengens*** بالإضافة إلى الغنغرينة الغازية التهاب المرارة الغنغرينية سواء مع أو من دون الغنغرينة الغازية الحشوية وتسبب تعفناً عقب إجهاض مصحوباً بتحلل خلايا حمراء داخل الأوعية الدموية .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Motility	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+
Spore	UX	UX	TX	VX	VX	VX	VX	TX	TX	VX
Microaerophilic	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–
Haemolysis	+	–	–	+	+	+	+	–	–	+
Growth at 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Carbohydrates, acid from:										
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
lactose	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
salicin	–	+	+	+	+	+	–	+	+	–
sucrose	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–
Milk	AGC	AGC	AC	AC	A(C)	A(C)	AGC	E	–	GC
Nitrates reduced	+	+	+	–	+	+	+	–	–	+
Indole	–	–	–	–	–	–	–	–	–	d
Gelatin	+	–	–	–	–	+	+	–	+	+
Meat (digestion)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Urease	–	–	–	.	.	–	.	.	.	–
H_2S	+	–	–	–	–	+	+	.	+	+
Egg-yolk (pearly layer)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	d
LV (lecithinase)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	d

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
Spore	UX	UX	VX	UVX	UVX	TY	TY	VX	TY	–	–	–
Microaerophilic	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
Haemolysis	+	+	–	+	+	d	+	+	–	–	–	–
Growth at 37 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Carbohydrates, acid from:												
glucose	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+	–
lactose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
salicin	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+	–
sucrose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
Milk	A	M	M	CM	CM	–	E	M	–	–	A	–
Nitrates reduced	–	–	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	–	–	–	–	+
Indole	–	–	–[b]	+	+	+	+	–	–	–	–	–
Gelatin	–	+	+	+	+	–	(w)	+	–	–	–	–
Meat (digestion)	–	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–	–
Urease	–	d	–	–	+	–	d	+	.	.	.	.
H_2S	+	+	+	+	+	+	–	+	w	.	.	.
Egg-yolk (pearly layer)	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
LV (lecithinase)	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–

1 **Clostridium welchii**; *C. perfringens*; *Welchia perfringens*
2 **Clostridium butyricum**
3 **Clostridium tertium**
4 **Clostridium carnis**
5 **Clostridium fallax**
6 **Clostridium septicum**
7 **Clostridium chauvoei**; *C. feseri*
8 **Clostridium innocuum**
9 **Clostridium difficile**
10 **Clostridium oedematiens**; *C. novyi*
11 **Clostridium botulinum** types C, D, E (non-proteolytic)
12 **Clostridium botulinum** types A, B, F
13 **Clostridium sporogenes**
14 **Clostridium bifermentans**
15 **Clostridium sordellii**; *C. bifermentans*
16 **Clostridium tetanomorphum**
17 **Clostridium tetani**; *Plectridium tetani*
18 **Clostridium histolyticum**
19 **Clostridium putrefaciens**
20 **Eubacterium limosum**
21 **Eubacterium aerofaciens**
22 **Eubacterium lentum**

[a] May be reduced beyond nitrite.
[b] See Section 4.5.22 (p. 36).

جدول رقم (26)

وقد سببت الـ *Cl. tetium* حالة تجرثم الدم في المرضى المصابين بنقـص في الخلايا البيضاء المتعادلة وسرطانات دموية .

وقد ارتبط وجود الـ *Cl. septicum* مع سرطان القولون والمستقيم وعزلـت مـن الدم والجروح الملتهبة . وقد اعتبر وجودها في الزراعة المخبرية كمؤشر بدائـي علـى وجـود السرطان ، واقترن وجود الـ *Cl. septicum* مع ارتفاع في عدد الوفيات .

يعتقد بأن هذه الإصابة ناتجة عن امتصاص السـموم الخارجيـة مـن قبـل الأمعـاء في الإنسان ويمكن إنتاج السموم من قبل البكتيريا بعـد تناولها . ولذلـك فـإن هـذه العصيـات يمكن أن تظهر في محتويات المعدة والبراز في الإنسان الحي وفي محتويات أمعاء الإنسان الميت . تصاب بعض الحيوانات بهذه الإصابة مثـل البقـر والحصـان والغنـم وغيرهـا بسـبب تناولها الأطعمة ملوثة .

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

1. يجب فحص الأطعمة المشبوهه بعمل لطخة على شريحة وصبغها بطريقة جـرام والكشـف عن وجود الأبواغ .
2. تحقن عينات الطعام في أوساط زراعية مناسبة مثل **Blood Agar** و **Cooked meat** بعد تسخينها لدرجة 65 – 80 مئوية للتخلص من البكتيريا غير المنتجـة للأبـواغ ولمـدة 30 دقيقه وتحضن الأوساط في ظروف لاهوائية وتؤخذ صفات المستعمرات النامية .
3. يتم التحقق التالي من الـ *Cl. Botulinum* بالاعتماد علـى الصفـات السـمية والحيويـة وتتميز عن *Cl. sporogenes* من خلال فحص السمية لحيوانات الإختبار .
4. يمكن عمل مستخلص لعصيات البكتيريا وذلك بطحن الطعام المصاب ومزجه مع محلـول ملحي معقم ثم يرسب بالطرد المركزي ويؤخذ الطافي ويعالج بالتسخين لمدة عشر دقـائق تحـت 100°م ثـم يحقـن في مجموعة مـن حيوانات الاختبـار ، وتحقـن مجموعـة أخـرى

بمستخلص غير مسخن . يجب عدم حدوث موت حيوانات المجموعـة الأولى وحدوثه في المجموعات الثانية .

5. يتم الكشف عن سموم البكتيريا في الطعام بمفاعلته مع خلايا حمراء مغطاة بأجسام مضادة متخصصة فيظهر تخثر الدم .

والمخطط التالي يستخدم لتشخيص أنواع الـ Clostridium بشكل عام

البكتريا الحساسة للـ Vancomycin والمقاومة للـ Colistin
ذات مستعمرات كبيرة غير منتظمة منتشرة او تمت
مشاهدة الابواغ في طريقة جرام للصبغ

- (+) **Clostridium Spp.**
  - النامية في وجود الأكسجين
    - (+) *Cl. tetium*, *Cl. histolyticum*
    - (-) حلقتين من تحلل الدم الكامل ( )
      - (+) *Cl. perfringens*
      - (-) فحص الاندول Indole
        - (+) *Cl. bifermentans*, *Cl. sorellii*, *Cl. cadaveris*, *Cl. tetani*
        - (-) موجبة أو متغيرة التفاعل مع صبغة جرام
          - (+) *Cl. clostridiofrme*, *Cl. ramosum*
          - (-) Other Clostridium Spp.
- (-) فحصي Catalase و Indole
  - (+) *P. acnes*
  - (-) عصويات صغيرة وفحص
    وفحص الـ No3
    وفحص حفز الأرجنين
    Arginine Stimulation
    - (+) *E. elentum*
    - (-) فحص الأبواغ
      - (+) **Clostridium Spp.**
      - (-) Eubacterium, *Cl. ramosum*, *Cl. Clotridioforme*, Propionibacterium, Lactobacillus, Bifidobacterium, Actinomyces, Mobilunus
        حيث يمكن التمييز بينها بوساطة
        gas liguid chromatography (GLC)



BACILLUS

تتميز أنواع هذا الجنس بأنها g + ve أو متغيرة التفاعل مع صبغة جرام ، عصوية كبيرة مستقيمة هوائية أو لاهوائية اختيارية منتجة للأبواغ . بسبب إنتاجها للأبواغ فإنها تتواجد حتى في الظروف غير المناسبة ولذلك تعتبر من أكثر الملوثات للزراعات المخبرية وتتواجد في الماء والهواء والتربة . معظم أنواع هذا الجنس هي مسبب للأمراض وكقاعدة فإن تشخيص هذه البكتيريا على مستوى النوع غير ذي أهمية للغايات الطبية . وينسحب ذلك على جميع الأنواع باستثناء النوع *B.anthracis* مسبب مرض الجمرة والنوع *B. cereus* مسبب فساد الطعام .

تظهر الخلايا الخضرية لأنواع الـ Bacillus على شكل خلايا عصوية مستقيمة بنهاية دائرية أو مربعة . وتظهر إما على شكل مفرد أو سلاسل وجميع الأنواع غير متحركة باستثناء *B. anthracis* .

تظهر النموات المثالية لهذا الجنس على شكل مستعمرات كبيرة منبسطة على الأوساط غير الاختيارية ، وتعطي نتيجة إيجابية مع الـ Oxidase وتحللاً كاملاً من نوع β . والسلالات التي تظهر g - ve تظهر بشكل مغاير للصفات العامة لهذا الجنس حيث تعطي مستعمرات صغيرة وغالباً لاتنتج أبواغاً . ربما تستطيع انواع الــ Bacillus النمو على EMB أولا تستطيع .

ومن الأنواع التابعة لهذا الجنس

B. cereus و *B. mycoides* و *B. subtilis* و *B. mesentericus* و *B. anthracis* و *B. megaterium* و *B. thuringiebsis* و *B. pumilis* و *B. licheniformis* و *B. firmus* و *B. coagulans* و *B. circulans* و *B. sphaericus* و *B. laterosporus* و *B. brevis* .

تسبب الـ *B. anthracis* مرض الجمرة عادة في الحيوانات ، والتي تنتج التهابات جلدية والتهاب في القناة التنفسية، ويحدث ذلك عند احتكاك الإنسان بالحيوانات المصابة ، ولذلك يحدث انتقال الإصابة من الحيوان المصاب إلى الإنسان .

Bacillus anthracis

الشكل Morphology :

g + ve ، عصوية مستقيمة ، كبيرة تترتب على شكل سلاسل ويمكن أن تظهر منفردة أو على شكل ازواج ، تنتج ابواغاً وتكون مركزية الموقع . تظهر السلاسل محاطة بطبقة من المحفظة وتظهر المحفظة عند التنمية في الوسط الغني ، تظهر الابواغ عندما تكون البكتيريا في التربة والاوساط الزراعية وليس في الانسجة .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية ولا هوائية اختيارية ، متوسط درجة الحرارة 16 – 45°م ، والمثلى 35°م ، تنمو على الأوساط العادية وتتصف المستعمرات على الأوساط الصلبة بأنها كبيرة بيضاء رمادية أو معتمة بارزة وغير منتظمة مع حافة متموجة . وتظهر مستعمرات بشكل حرف الواو . وعلى الـ B.A فإنها لا تحلل خلايا الدم الحمراء للخراف.

ويمكن مشاهدة المستعمرات الناعمة والخشنة وكلا النوعين يكون ضاراً وفي الوسط السائل تتكون قشرة ثقيلة مع قليل من النمو تحت سطح الوسط .

الصفات الكيميائية الحيوية .Biochemical char

تخمر هذه البكتيريا الجلوكوز والسكروز والمالتوز والديكسترين (Dextrin) ، منتجة حامضاً دون غاز . ولمزيد من التفاصيل ينظر جدول رقم 27 .

الإصابة Pathogenicity:

تعتبر جميع الثديات قابلة للإصابة وبعض الحيوانات ذوات الدم البارد . وأما بالنسبة للخنزير الإفريقي Guinea - pig والفئران فإنها حساسة للإصابة بشكل كبير . إذا حقن الحيوان بهذه البكتيريا تحت الجلد فإنه سيموت خلال يومين مظهراً التهاباً في

موضع الحقن وبظهور حالة الوذمه (Oedema) في الأنسجة تحت الجلدية (Subcutaneous tissues) ، ويظهر الحيوان تعفناً في الدم Septicemia ويظهر أعداد كبيرة من العصيات التي تسبب الجمرة في دم القلب والشعيرات الدموية داخل الأعضاء . وتوجد بأعداد كبيرة خاصة في الطحال الذي يتضخم ، وكذلك في الكليتين . وفي الإنسان تحصل الإصابة من مصادر حيوانية عادة عن طريق الجلد والغشاء المخاطي ، وفي حالات نادرة عن طريق التنفس إلى الرئتين ، ولذلك يظهر المرض في الجلد عند الناس الذين يخالطون الحيوانات المصابة . وتوصف حالة الإصابة ببثور خبيثة (Malignant Pustule) .

ويمكن أن تنتج الإصابة عن طريق تنفس العصيات المعلقة بالغبار أو على وبر صوف الحيوانات المصابة ، وتستقر البكتيريا في الجزء السفلي من القصبة الهوائية أو الشعبة الكبيرة وينتج عن ذلك التهاب ونزيف (Haemorrhage) وإنتفاخات تحت الجلد بسبب وجود سوائل وذمة (Oedema) وينتشر إلى الغدد الصدرية (Thoracic glands) ، وتوجد الجراثيم بأعداد كبيرة في موقع الإصابة (Lesion) .

وقد تسبب هذه البكتيريا حالة ثابتة ونادرة وهي الجمرة الهضمية وهي أكثر الحالات حدة ، وتحدث الإصابة من جراء ابتلاع الخلايا البكتيرية أو أبواغها وتنشأ تبعاً لذلك إصابة معوية . وفي هذه الحالة يمكن عزل المسبب من براز لمريض وتكون الحالة قاتلة إذا لم تعالج . تنتج البكتيريا نوعين من السموم الخارجية هما :-

1- Lethal factor (L. F.) c-Edema factor (E. F.) .ويعتمد السمان على بروتين اسمه الأنتيجين الحامي Protective Antigen (PA). إن الربط بين EF والـ PA يزيد من قابلية العائل للإصابة بسبب تثبيط وظيفة الخلايا المتعادلة الالتهامية .

التشخيص المخبري Lab. diagonsis :

تحضر لطخة من إفرازات البثور وتصبغ بطريقة جرام ، وتتم الزراعة المتكررة على أطباق الأوساط الصلبة ، وتفحص المستعمرات تحت عدسة التكبير المنخفض حيث في النهاية تصبغ بصبغة جرام .

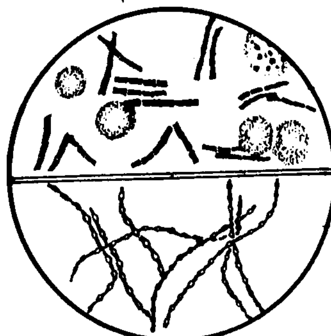
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Gram reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
Motility[a]	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morphological group (see text)	1	1	1	1	1	1	1	1/2	2/3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
Spore shape	X	X	X	X	X	X	X	X	XY	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Y
Spore position	U	U	U	U	U	U	U	UVT	T	UVT	UVT	UVT	U	T	UVT	T	T	T	T
Swelling of bacillary body	−	−	−	−	−	−	−	d	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+
Growth at 45 °C	−	d	d	+	d	+	+	+	+	d	d	d	d	d	−	+	+	+	d
Growth at 65 °C	−	−	−	−	−	−	−	d[b]	−	−	−	−	−	−	−	+	w	+	−
Growth at pH 5.7	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−	d	d	−	+	+	.	.	−	d
Growth in 7 % NaCl	+	d	+	+	+	+	+	−	+	−	−	d	−	−	−	−[c]	.[d]	−[c]	d[e]
Utilization of citrate	d	+	−	+	+	+	+	d	−	−	d	−	−	−	−	.	.	−	d
Anaerobic growth in glucose broth	+	+	−	+	−	−	−	+	+	+	−	d	+	+	+	−	−	+	−
Carbohydrates, acid from:																			
glucose	+	+	w	+[f]	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+[f]	+[f]	+	+	+	−
arabinose	−	−	d	+	d	+	+	d	−	−	−	+	−	+	+	d	−	−	−
mannitol	−	−	+	+	d	+	+	d	−	−	d	+	+	+	+	d	+	−	−
xylose	−	−	d	+	d	+	+	d	−	−	−	+	−	+	+	d	+	−	−
VP test	+	+	−	+	−	+	+	d	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	+	−	+	+	−	−	+	−
Nitrate reduction	+	+	+	+	d	−	+[g]	d	d	−	d	d	+	+	+	+[h]	−	d	−
Indole	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	d	−	−	−	−	−	−
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	d	−	d	+
Casein hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	d	d	+	+	d	+	−	+	−	−	d	d
Urease	−	d	−	d	d	−	d	−	−	−	−	−	−	−	−	.	.	.	d
LV	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	.	.	d	.
Lysozyme sensitivity	r	r	s	d	s	d	d	s	s	r	d	d	r	s	d	.	.	s	d

1 **Bacillus anthracis**
2 **Bacillus cereus**; *B. anthracoides*
3 **Bacillus firmus**
4 **Bacillus licheniformis**
5 **Bacillus megaterium**
6 **Bacillus pumilus**
7 **Bacillus subtilis**
8 **Bacillus coagulans**
9 **Bacillus pantothenticus**
10 **Bacillus alvei**
11 **Bacillus brevis**
12 **Bacillus circulans**
13 **Bacillus laterosporus**
14 **Bacillus macerans**
15 **Bacillus polymyxa**
16 **Bacillus** sp. Wolf & Barker group I
17 **Bacillus** sp. Wolf & Barker group II
18 **Bacillus stearothermophilus**; Wolf & Barker group III
19 **Bacillus sphaericus**

[a] All species may produce non-motile variants.
[b] Some strains grow at 65 °C at pH 6.2 (Wolf & Barker).
[c] Negative in 3 % NaCl.
[d] Positive in 3 %; unknown 7 %.
[e] Positive in 5 %; unknown 7 %.
[f] Gas may be produced on suitable medium.
[g] Often negative in strains that have survived severe heating.
[h] Under anaerobic conditions reduced to nitrogen gas.
J positive in young cultures; inconstant in older cultures.

r resistant.
s sensitive.
T terminal spore.
U central spore.
V subterminal spore.
X spore oval.
Y spore round.

جدول رقم (27)



شكل الخلايا تحت المجهر حيث تكون عصوية على شكل سلاسل

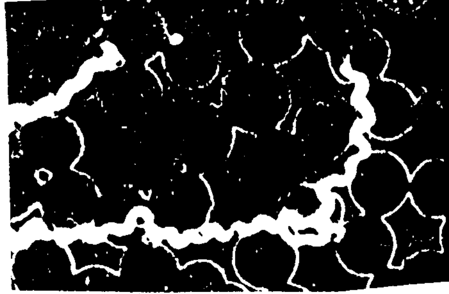
هـ . البكتيريا اللولبية Spirochetes :

Borrelia

تعتبر هـذه اللولبيـات Spirochetes ، متطفلـة في معيشـتها بشـكل طبيعـي علـى أنواع مختلفة من النواقل (Anthropods) منها القمل والقراد ، ويمكن أن تحدث إصابـات في الإنسان أو الحيوانات مسببة لها مـرض الحمـى الراجعـة Relapsing Fever بسـبب عضة الناقل المصاب وأكثر الأنواع التي تسبب الأمراض في الإنسـان هـي B. hermsii و B. turicatae و B. parkeri و B. bergmanni و B. novyi و B.duttonii و B. currentis وباستثناء B. recurrentis فـإن جميـع الأنـواع تنتقـل بواسـطة القـراد خاصة في الولايات المتحدة .

ويمكن مشـاهدة هـذه الأنـواع بشـكل واضـح في دم الإنسـان المصـاب خاصـة في المراحل البدائية من فترة ظهور الحمى وذلك بالفحص المباشر لدم المريض ، وذلك بتحضـير لطخة وفحصها بعد صبغهـا بطريقـة جـرام حيـث تظهـر ve - g ويبلـغ طولها 10 – 20 ميكروناً وتحتوي على 5 – 7 لفات ، ومتحركة بنشاط .

لولبيات الـ *B. duttoni* باستخدام *تقنية الحقل المعتم*



B. recurrentis

الشكل Morphology :

لولبية غير منتظمة ، لينة ومتحركة ، يمكن صبغها بصبغات البكتيريا أو الدم .

الزارعة :

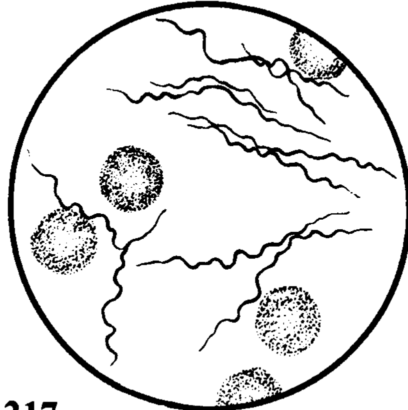
يمكن زراعتها في وسط سائل يحتوي على الدم أو المصل أو الأنسجة ، وتفقد سميتها بالنقل الزراعي المتتالي وتحتاج إلى قليل من الأكسجين .

الإصابة :

تتسبب الحمى الراجعة من أكثر من 15 نوعاً من الـ **Borrelia** وتسمى التي تنتقل القمل بـ *B. recurrentis* ، تصيب الدم والكبد والطحال وتسبب نزيفاً وموتاً في الأنسجة ، ويمكن أن تصيب الكلية والجهاز الهضمي بنزيف ونادراً ما تشاهد في سائل النخاع الشوكي من مريض مصاب بالتهاب السحايا . تظهر على المريض حمى لمدة 3 – 5 أيام ثم تختفي لمدة 4 – 10 أيام ثم تظهر مرة أخرى .عند ظهور الحمى تكون البكتيريا في الدم وفي غيابها تكون قد خرجت . وقد وجد في عام 1975 بأن النوع *B. burgdorferi* يسبب مرض **Lyme** والذي هو عبارة عن التهاب مفاصل روماتزمي حيث عزلت البكتيريا من الدم وسائل النخاع الشوكي والجلد ونادراً من سوائل المفاصل .

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis) :

1. تجمع عينات الدم عند ارتفاع درجة حرارة المريض وتحضر منها تحضيرات مباشرة للفحص .
2. يتم تحضير أفلام دم سميكه ورقيقه وتصبغ بصبغة جيمسا أو رايت ، حيث تظهر كبيرة ولفاتها واسعة مع الخلايا الحمراء . وهذا أهم إجراء يعتمد عليه في التشخيص حيث أن 70٪ من الحالات أعطت نتائج إيجابية .
3. تجرى التفاعلات المصلية لمصل المريض حيث يتم الكشف عن الأجسام المضادة لهذه اللولبيات سواء من خلال تجربة تثبيت المكمل أو التخثر حيث يظهر المريض تركيزاً مرتفعاً من الأجسام المضادة المخثرة للأنتيجين **Proteus OXK** يصل إلى 1 : 80 .



Trepomema

هناك عدة أنواع تتبع لهذا الجنس منها *T. macordentium* و*T. microdentium* حيث توجدان في تجويف الفم و*T. genitalis* ، وتوجد في الجهاز التناسلي. و*T. carateum* والمسببة لأمراض جلدية مزمنة .

جمع الأنواع السابقة متحركة بنشاط وتحتوي على لفات كثيرة وصلبة، ورفيعة، ومن الصعب صبغها، ويمكن مشاهدتها باستخدام تقنية الحقل المظلم **Dark field microscopy** .

T. pallidum

الشكل **Morphology** :

هذه البكتيريا رفيعة جداً وعند حركتها تلتف حول محورها الطويل . ويمكن لها أن تختزل نيترات الفضة إلى فضة لامعة تتجمع على أسطح الخلايا . يمكن مشاهدتها في الأنسجة ، وتنقسم هذه الخلايا بالانقسام العرضي .

الصفات الزراعية **Cultural Char.** :

لم تنجح زراعة هذه البكتيريا على الأوساط الصناعية أو على أجنة البيض **Egg Embryo** أو على الأنسجة الزراعية **Tissue Culture** . والبكتيريا التي زرعت تحت ظروف لا هوائية هي شبيهة بالسلالة الرمية **(Saprophytic Strain)** ، التي تنمو على أوساط زراعية بسيطة كان هذا حتى عام **1981** عندما جاء **Field Steel** وزملاؤه و **Norris** الذين استخدموا نظاماً معقداً للزراعة على الأنسجة باستعمال طبقة واحدة من خلايا ليفية **Fibroblast** وتمكنوا من تنمية النوع *T. pallidum* النوع الحيوي **Pallidum (biotype)** المسبب لمرض الزهري خارج الجسم الحي **In vitro** . هذه البكتيريا حساسة لدرجات الحرارة العالية ، وتموت على درجة 42°م وهي تقاوم الجفاف ، واستخدمت هذه الصفة في قتلها برفع درجة حرارة المريض ، وتموت باستخدام المعادن الثقيلة مثل الزئبق والبزموث وغيرهما .

الإصابة Pathogenicity :

تكون الإصابة الطبيعية مقصورة في العادة على الانسان إلا أنها ظهرت في حيوانات الاختبار مثل الأرنب والقرد . تنتقل الإصابة من خلال الاتصال الجنسي . ويكون موقع الإصابة المعدي على الجلد أو الغشاء المخاطي للجاز التناسلي وتنتقل الإصابة بنسبة 10٪ من مواقع غير تناسلية (فموية) ويمكن أن تنتقل العدوى من خلال مشيمة الأم الحامل المصابة إلى الجنين ويحدث نتيجة لذلك موت للجنين أو إصابته بالزهري وتظهر الأعراض عليه بعد الولادة . بالإضافة للإصابة الموضعية في الجلد والقناة التناسلية تتعرض العقد اللمفاوية للإصابة ومجرى الدم حيث تظهر نتيجة لذلك بثور بأنواع وأشكال مختلفة بإختلاف مرحلة الإصابة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

1. التحضير المباشر Direct Prepation يمكن تشخيص حالة الإصابة بالزهري باستخدام تقنية الحقل المظلم Dark Field Illumination ، وفي هذه الحالة يمكن الحصول على قطرة من الإفرازات ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة وتغطيتها بغطاء الشريحة ، ثم مشاهدتها تحت المجهر بتقنية الحقل المظلم Dark Field Illumination بحيث تظهر لنا القاعدة معتمة وتظهر الخلايا اللولبية مضيئة ومتحركة ، وتختفي هذه اللولبيات بعد تناول المضادات الحيوية بساعات من الإفرازات .
2. التفاعلات المصلية Serolgical Reactions ويمكن تشخيص هذه الإصابة باستخدام التفاعلات المصلية مثل VDRL و CFT ، وباستخدام الفلوسيين وغيرها من الفحوصات المصلية المتخصصة . وقد وجد بأن مرضى الزهري ينتجون أجساماً مضادة تتفاعل مع أنتيجين النوع *B. burgdorferi* مسبب مرض Lyme بنسبة 15٪ من الحالات .
3. الزراعة Culture : حيث ما زالت هذه التقنية غير روتينية ولا تجرى إلا على مستوى الأبحاث .

Leptospira

يوجد نوعان رئيسيان يتبعان لهذا الجنس هما :

1- L. interrogans النوع المرضي .

2- L. biflexa الأنواع الرمية غير الضارة .

يتبع للنوع الأول الضار أكثر من 180 نوعاً مصلياً . Serotype والتي كانت قد صنفت كأنواع Species في السابق .

يمكن تمييز الأنواع غير الضارة عن الضارة بقدرتها على النمو تحت درجة 10م أو 5 درجات مئوية أقل من درجة نمو الأنواع الضارة .

يكون حجم الخلايا صغيراً لدرجة تعذر مشاهدتها في التحضيرات الرطبة المباشرة من الدم ولا تسبب حركة للخلايا الحمراء كما تعمل الـ Borrelia .

الشكل Morphology

متحركة بنشاط وتظهر بتنقية الحقل المظلم كسلسلة من الخلايا الكروية الصغيرة جداً ولا تصبغ بسهولة ولكن يمكن تشريبها أو إشباعها بالفضة .

الصفات الزراعية Cultural Char. :

تنمو بشكل جيد في ظروف هوائية تحت درجة 30 مئوية أو في درجة حرارة الغرفة في Peptone broth مع 10٪ مصل مكسل . وعلى الأوساط الصلبة تظهر مستعمرات دائرية بقطر 1 – 3 ملم بتطور إذا احتوى الوسط على 10٪ مصل وهيموجلوبين وتنمو في غشاء البيض المخصب كذلك ، تحتاج إلى فترة حضانة تمتد إلى 6 أسابيع في الظلام وتنمو البكتيريا تحت سطح الوسط السائل .

الإصابة (Pathogenicity) :

تنتقل العدوى للإنسان عبر تناول الماء والطعام الملوثين ونادراً من خلال الغشاء المخاطي أو الجلد المجروح ، تظهر الأعراض على شكل حمى بسبب وجود اللولبيات في الكبد والكليتين منتجة نزفا وتموتا في الأنسجة مما يقود إلى تعطيلها الوظيفي وقد يغزى الجهاز العصبي المركزي مما يؤدي إلى ظهور حالة شبيهة بحالة التهاب السحايا غير الإنتاني الحميد . وعند شمول الكليتين في الإصابة تخرج اللولبيات مع البول وهذا غالباً ما يكون مصدر التلوث والعدوى للإنسان .

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

1- الفحص المجهري :

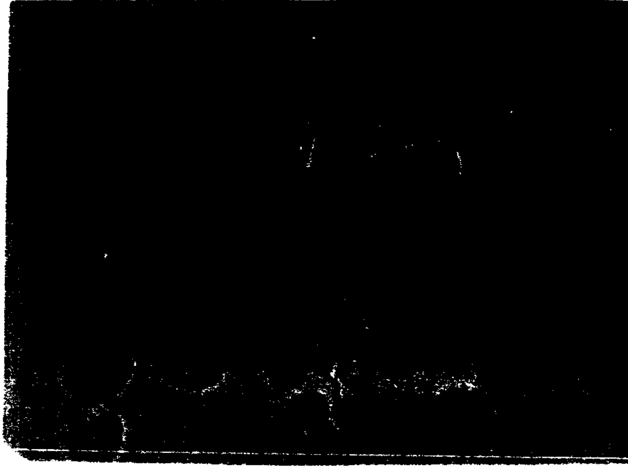
إجراء تقنية الحقل المظلم أو تحضير فيلم سميك من الدم وصبغه بصبغة جيمسا يظهر نتيجةً إيجابية لهذه اللولبيات خاصة في المراحل المبكرة للإصابة ويمكن عمل تقنية الحقل المظلم لراسب عينة بول حيث تظهر نتيجة إيجابية .

2- الزراعة :

تتم زراعة الدم بكمية كبيرة وسائل النخاع الشوكي في الأسبوع الأول والبول بعد ذلك في وسط يحوي مصلاً مخففاً ويخضع النمو للفحص أسبوعياً خلال فترة الحضانة .

3- الفحوصات المصلية :

يظهر المريض تركيزاً مرتفعاً من الأجسام المضادة المخثرة يصل إلى الحد الأعلى في الأسابيع (5 – 8) من بداية الإصابة وتستخدم تجربة تثبيت المكمل وتعطي نتائج إيجابية ، ويتوافر حالياً فحص ELISA للكشف عن Igm في مصل المريض .



و– المايكوبلازما Mycoplasma

تدعى هـذه البكتيريا الجراثيـم المشـابهة لـذات الجنـب والرئـة (P. P. L. O.) Pleuro Pneumonia Like Orgs. من الناحية الفسيولوجية فقد صنفت هذه الجراثيم لتقع بين البكتيريا والركتسيا ، ويمكن أن تكون متطفلة أو متعايشة مع العوائل المختلفة .

أهم نوع قد يسبب إصابات عند الإنسـان هـو *M. penunonia* حيـث تسـبب التهاباً في الرئة والتهاباً في الشعب الهوائيـة ، وهنـاك أنـواع أخـرى قـد تسـبب التهابـات في المفاصل وأمراضاً أخرى .

هناك ستة أنواع معروفة تابعة لهذا الجنس وهي :

1. *M. hominis* : وتسبب الإصابة في البلعوم الفموي والقناة البولية والتناسلية والدم .
2. *M. fermentans*: وتسبب التهابات في القناة البولية التناسلية .
3. *M. orale Type I,II & III*: وتسبب التهاباً في البلعوم الفموي والنخاع العظمي .
4. *M. pneumonia*: وتسبب التهاباً في البلعوم الفموي والرئتين .
5. *T. strain*: وتسبب التهاباً في القناة البولية والتناسلية .
6. *M. salivarium*: وتسبب التهاباً في البلعوم الفموي .

الشكل Morphology :

تغطى الخلية بثلاث طبقات من غشاء السيتوبلازم ويبلغ سمكها 7.5 – 10 مايكرون ولا تحتوي على جدار خلوي سميك حيث أنها فاقدة لمركبات جدار الخلية الأساسية مثل Diaminopimelic acid ومركب Mucopeptide. عند صبغها بطريقة جرام لا بد من تعريضها للصبغة لفترة طويلة حتى تكتسبها وعندها تظهر سلبية التفاعل مع صبغة جرام .

الصفات الزراعية .Cultural Char :

هوائية ولا هوائية اختيارية ، درجة الحرارة المثلى 36 – 37م . عند زراعتها على B. Agar تظهر تحللاً جزئياً من نوع ألفا . يحدث نمو الأنواع اللاهوائية بإضافة مستخلصات الخميرة والكولسترول إلى الوسط الزراعي .

يمكن تنمية الـ Mycoplasma المتطفلة على أوساط غنية مثل Penicillin G، Yeast extract , Horse Serum , Heart infusion Agar. أو أي وسط مناسب أخر .

وتشاهد المستعمرات باحجام مختلفة تتراوح بين 1 – 10 مايكرون كحد أدنى للمستعمرات الصغيرة إلى 250 – 750 مايكروناً كحد أعلى للمستعمرات الكبيرة ، وتكون المستعمرات بارزة ، ويكون مركز المستعمرة نامياً داخل الوسط ، ويظهر لونه داكناً بنسبة أكبر من المحيط والحافة خاصة عندما تفحص المستعمرات بوساطة الضوء ، وتشبه في شكلها شكل البيضة المقلية . ويكون النمو في الأوساط السائلة الغنية غير مرئي بسبب صغر حجم البكتيريا ، ولذلك لا بد من نقل النمو إلى الأوساط الصلبة ، وهذه الجراثيم لا تظهر بطرق الصبغ العادية .

العزل من المواد الطبية Isolation from clinical materials :

توخذ العينات الطبية للزراعة الأولية من مسحات (Swab)الحنجرة والقناة التناسلية ، والمستقيم والجروح وغيرها ، وتوضع في أنبوب يحتوي على الأوساط الاختيارية السائلة ويحتوي أيضاً على عوامل قاتلة للبكتيريا ويوضع في الحاضنة تحت درجة 36م لعدة أيام . وبعد ذلك تعاد الزراعة على الأوساط الصلبة وتوضع في الحاضنة تحت درجة 36م .

تنمو الـ *M.pneumonia* في جو هوائي يحتوي على 5٪ ثاني أكسيد الكربون . بينما الـ *M.salivarium , M.orale , M.fermentans* تتطلب ظروفاً لاهوائية من 95٪ نيتروجين و5٪ ثاني أكسيد الكربون في حيز مفرغ من الهواء العادي . توضع الأطباق تحت هذه الظروف وتفحص بعد أسبوع ثم أسبوعين ثم بعد ثلاثة أسابيع . يحتفظ بالأطباق المعدة لزراعة *M.pneumonia* لمدة 30 يوماً قبل التخلص منها معطية نتيجة سلبية .

الصفات الكيميائية الحيوية Biochemical char. :

ينظر جدول رقم 16 .

التشخيص بوساطة تجربة منع النمو Growth inhibition test :

يحضر مصل الأرنب الخاص ضد نوع معين من ال Mycoplasma، ثم تشبع أقراص من ورق الترشيح فيه ، ثم توضع هذه الأقراص على نمو النوع غير المعروف على سطح الوسط ، وبعد فترة الحضانة التي تستمر لمدة 7 أيام تحت درجة 36م ، تفحص الأطباق مجهرياً على العدسة 10 و 40 . إن ظهور حلقة حول أي قرص أكبر من الحلقة الصافية التي تحيط بالقرص الضابط (Control)، والذي يحتوي على المصل الطبيعي للأرنب تدل على نوع Mycoplasma الذي تم التحقق منه .

الركتسيا Rickettsia

تعتبر الركتسيا قريبة في صفاتها مَن الفيروسات لأنها أصغر مـن البكتيريـا حجمـاً ، ولأن نموها يشبه نمو الفيروسات وظهورها يكون داخل الخلايا . وإنـه لمن الواضح الآن أن الركتسيا كائنات صغيرة ، طفيلية مجبرة ، بكتيريا حقيقة. تظهر الأشكال التركيبية للبكتيريا وتحتوي على معظم الأنزيمات التي تحتوي عليها البكتيريا ، وتحتوي على جـدار خليـة مشـابه لجدار خلية البكتيريا بالضبط.

والمستودع الطبيعي لهذه الجراثيم هو النواقل بحيث تنقلها إلى كائنـات أخـرى دون أن تسبب لها أي مرض وعندما تنتقـل إلى عـائل غـير طبيعـي مثـل الإنسـان فإنهـا تسـبب لـه إصابات . باستثناء مسببات الـ Q –fever ، جميع الركتسيا تنتقل عن طريق النواقل منتجة أمراضاً في الإنسان تتميز بظهور الحمى والبقع .

وتصنف أمراض الركتسيا إلى عـدة مجموعـات تعتمـد في التقسـيم علـى الأعـراض السريرية والنواحي الوبائية والصفات المناعية .

التصنيف:

1– مجموعة التيفوس Typhus group:

أ. التيفوس الوبائي وينتقل بوساطة القمل وتسببه الركتسيا *R.prowazeki*.

ب. اليتفوس المستوطن وينتقل بوساطة البراغيث ، وتسببه *R.mooseri*.

2– مجموعة الحمى البقعية Spotted fever group:

أ. حمى بقـع جبـال روكـي Rocky mountain spotted fever، وتسـببه الركتسـيا *R.rickettsi*

ب.حمى البحر الأبيض المتوسط Mediterranean fever أو حمى لدغة القراد لجنوب إفريقيا South African Tick bite fever أو تيفوس القراد الكيني Kenya tick typhus أو تيفوس القراد الهندي Indian tick typhus وتسببها *R.conori*.

ج.إصابة الركتسيا من قراد شمال آسيا : North Asian tick- borne rickettsiasis وتسببها *R.siberica*.

د. تيفوس قراد أرض الملكة Queensland tick typhus وتسببه *R.austrialis*

ه. جدري الركتسيا Rickettsialpox أو إصابة الركتسيا البثرية الروسية Russian vesicular rickettsiasis، وتسببه *R.akari*.

3 – تيفوس الحكة Scrub typhus أو حمى سوسو جاموشي Tsutsugamushi fever، وتسببها R.tsutsugamushi.

4– حمى Q: وتسببها *Coxiella burneti*.

5– الحمى الخندقية Trench fever، وتسببها *R.quintana* .

صفات الركتسيا :

أجريت أكثر الأبحاث الدراسية على الجرثومة *R.prowazeki* حيث تبين أنها عصويات قصيرة أو كروية ، وتعتبر الركتسيا عديدة التشكل ،يمكن أن توجد مفردة أو على شكل أزواج أو على شكل سلاسل قصيرة أو على شكل زوائد ، وعند صبغها بصبغة جيمسا تظهر تحت المجهر باللون الأزرق . تنمو الركتسيا في صفار البيض المحتوي على أجنة ويمكن الحصول على زراعة نقية من الركتسيا بترسيب معلق صفار البيض على جهاز الطرد المركزي . وتنمو كثير من السلالات على وسط خلوي حي . تحتوي الركتسيا على RNA و DNA بنسبة 3,5 : 1 كما هو الحال في البكتيريا .

تحتوي الركتسيا كذلك على جدار خلية مكون من Mucopeptides يحتوي على Muramic acid حيث تشبه محتويات جدار خلية ال Gram negative بكتيريا .

وتنقسم الخلايا هذه كما تنقسم البكتيريا وتحتوي الركتسيا على أنزيمات تقوم في العمليات الحيوية مخالفة بذلك الفيروسات . يمكن للركتسيا أن تفقد نشاطاتها الحيوية إذا خزنت على درجة صفر مئوية ، ويعزى ذلك لفقدانها Di-po4 pyridine nucleotide (DPN) . يمكن للركتسيا أن تنمو في أجزاء مختلفة من الخلية ، فمثلاً تنمو مجموعة التيفوس في السيتوبلازم وتنمو مجموعة الحمى البقعية في النواة . وتنمو بشكل جيد عندما يكون العائل خاملاً من الناحية الحيوية . ويمكن أن يتوقف نموها عند وجود بعض الأصباغ ويزداد النمو في وجود Sulfonamides ، وتزداد حدة الإصابة بسبب وجود هذا المضاد الحيوي . وأما بالنسبة لمسببة Q-fever ، فإنها تقاوم الجفاف ، وقد وجد بأنها تقاوم بسترة الحليب (60م لمدة 30دقيقة) وقد عزلت من حليب مبستر .

الركتسيا وأنتجيناتها وأجسامها المضادة Rickettsial ag. & abs. :

تعتبر الأجسام المضادة الناتجة بعد عملية التطعيم أكثر تخصصاً مما هي علية بعد الإصابة الطبيعية بأمراض الركتسيا وتظهر الركتسيا عدة تفاعلات مصلية منها :

1- Agglutination of *p. vulgaris* (Weil-felix reaction)

تشارك الركتسيا الـProteus معظم الأنتجينات ولذلك فإن المرضى المصابين بالركتسيا تنتج أجسامهم أجساما مضادة تتفاعل مع عدة سلالات من *P.vulgaris*، ومثال ذلك سلالة الـ proteus من نوع O X 19 تتخثر وبقوة بفعل مصل المريض المصاب بالتيفوس بنوعية .وتتخثر بفعل مصل المصاب بحمى بقع جبال روكي ولا تتخثر بفعل مصل المصاب بـ Q.fever، ومصل المصاب بتيفوس الحكة .

في فترة النقاهة يخثر مصل المصاب بالركتسيا وبقوة كبيرة سلالة الـ proteus الـOXK

2- Agglutination of rick.:

تتخثر الركتسيا عند تفاعلها مع الأجسام المضادة المتخصصة بها ، وهذا التفاعل حساس ويمكن استخدامه في تشخيص الركتسيا .

3- معادلة الركتسيا المرضية Neutralization of infective rick.:

المعادلة بالأجسام المضادة عملية متخصصة ، ولكن إجراءاتها التشخيصية معقدة حيث يحتاج الفحص إلى حقن في حيوانات أو غير ذلك .

4- C-F-T-with rick. Ags. :

يمكن استخدام هذا الفحص بشكل عام لتشخيص حالات الإصابة مخبرياً حيث يظهر الأشخاص الحاصلين على أمصال ضد التيفوس الوبائي مستوى منخفضاً من الأجسام المضادة المثبتة للمكمل والمتخصصة . وعند التعرض للتيفوس المستوطن يرتفع تركيز الأجسام المضادة للنوع الوبائي ، وهذا يعزى إلى التفاعل غير المتخصص Non- specific anamnestic reaction.

5- معادلة سموم الركتسيا Neutralization of rick . toxins :

تحتوي الركتسيا على سموم تؤدي إلى موت حيوانات الاختبار خلال ساعات بعد الحقن ، وتظهر الأجسام المضادة المتخصصة المعادلة للسموم خلال الإصابة ، كسموم مجموعة التيفوس ومجموعة الحمى البقعية وتيفوس الحكة . وتشبه هذه السموم السموم الداخلية في البكتيريا .

6- تثبيط تخثر الدم Haemagglutination inhibition :

تظهر الركتسيا والأجزاء التي تفصل منها عن طريق الحرارة في مذيب قاعدي تظهر تخثراً للخلايا الحمراء . ويظهر المريض في مصله الأجسام المضادة التي تبطل هذا التفاعل أثناء فترة النقاهة.

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

أ- العزل :

تعتبر عملية عزل الركتسيا صعبة من الناحية التقنية وعديمة الفائدة على مستوى التشخيص . يمكن حقن دم المصاب بالركتسيا في الخنزير الإفريقي أو الفأر أو أجنة البيض حيث تتواجد خلايا الركتسيا بشكل متكرر في دم المصاب عقب بداية ظهور الأعراض وقد وجدت كذلك في دم المصاب المسحوب منه عينة دم بعد 12 يوماً من بداية الإصابة .

فإذا لم يظهر الخنزير الإفريقي أعراضا (حمى ، أو نزيفاً نسيجياً ... الخ) تجمع منه عينة مصل للكشف عن وجود أجسام مضادة للتاكد من أن الحيوان كان قد تعرض لإصابة خفية.

ب- التفاعلات المصلية :

إن إجراء التفاعلات المصلية لتشخيص الإصابة بالركتسيا من أهم الإجراءات المخبرية للتشخيص ، حيث تعتمد على الأنتيجينات الموجودة فيها والأجسام المضادة الناتجة استجابة لدخول تلك الأنتيجينات . ويتم قياس تركيز الأجسام المضادة خلال فترة الإصابة . وقد نوقشت أنواع الأجسام المضادة الناتجة عن الإصابة بالركتسيا من خلال الأسطر الفائتة .

Chlamydiae

يستعمل هذا المصطلح ليعبر عن مسببات كل من داء الببغاء (مرض يصيب الطيور ويتميز بالإسهال Psittacosis)، ومرض اللمف الحبيبي الجنسي Lymphogranuloma venereum (LGV)،ومرض التراخوما Trachoma.

وتتميز هـذه المسببات بأنها غير متحركـة g-ve، طفيليـات مجبرة تعيـش داخـل الخلايا . ولأنها تعيش داخل الخلايـا فقـد اعتـبرت في وقـت مـن الأوقـات بأنهـا فيروسـات وتختلف الكلاميديا عن الفيروسات في النقاط التالية :

1- تحتوي على DNA&RNA ، بينما الفيروسات تحتوي على واحد .

2- تنقسم بوساطة الانقسام الانشطاري .

3- تحتوي على جدارخلية مثل جدار خلية البكتيريا .

4-تحتوي على رايبوسومات Ribosomes.

5- تحتوي على أنزيمات حيوية نشيطة .

6- يمكن تدمير نموها باستعمال بعض المضادات الحيوية .

وإنه لمن المرجح بأن هذه المجموعة من الجراثيم مشتقة مـن ال g-ve bacteria، ويمكن القول بأنها بكتيريـا ينقصهـا بعـض منتجـات الطاقـة ، وهـذا النقـص جعلهـا تعيـش داخل الخلايا.

التركيب والمكونات الكيميائية :

تتركب الكلاميديا مـن جـدار خلـوي خـارجي يشـبه جـدار البكتيريـا g-veحيـث يحتوي على تركـيز عـال مـن الدهـون ، ويحتـوي علـى ال Muramic acid في الـ Mucopeptide، ويمكـن وقـف تكويـن جـدار الخليـة بالبنسـلين . يوجـد الــRNA والــ DNA في الجزيئـات الصغـيرة والكبـيرة في الخليـة ويوجـد معظـــم ال RNA في الريبوسـومات داخـل السـيتوبلازم ، أمـا محتويـات الـبروتين في الجزيئـات الصغـــيرة فتبلـغ 60 ٪محتوياً على 18 حامضاً أمينياً كحد أدنى وتحتوي هذه الجراثيم على مواد دهينة كثيرة خاصة دهون الفوسفات . ويعتمد مبـدأ السـمية (Toxocity) علـى الأنـواع الضـارة مـن الكلاميديا حيث تستطيع قتل الفـأر عنـد دخولهـا عـبر الوريـد ، والحقيقـة أن طبيعـة القتـل الكيميائية غير معروفة .

تشبه الكلاميديا الركتسيا في تفاعلها مع الأصباغ حيث تظهر تفاعلات مختلفة باختلاف مرحلة تطورها ، فالخلايا المتطورة تتلون باللون البنفسجي مع صبغة جيمسا والأجسام غير المتطورة تظهر لوناً أزرق ، وتظهر g-ve مع صبغة جرام أو متغيرة ، ولا تستعمل هذه الصبغة في التعرف على هذه الجراثيم .

تحتوي الكلاميديا على نوعين من الأنتجينات يقعان في جدار الخلية ، وهما مقاومان لدرجة الحرارة ، وهما عبارة عن Proteinases & Nucleases.

لتنمية الكلاميديا تحتاج إلى بيض يحتوي على أجنة لأنها لا تحتوي على بعض منتجات الطاقة، والبعض ينمو في الأنسجة الزراعية Tissue culture وفي بعض أنسجة عدد من الحيوانات . تكسل الكلاميديا بسرعة بوساطة الحرارة ،وتفقد قدرتها على الإصابة خلال عشر دقائق على درجة 60م وبشكل جزئي على درجة 37م لمدة 3-12 ساعة . ويمكن أن تحتفظ بمقدرتها على إحداث الإصابة لعدة سنوات على درجة (-50م)-(-70م). ويمكن استخدام الإيثر (30 دقيقة) والفورمالين 1ر٪ خلال 24 ساعة ، والفينول (0.5٪ خلال 24 ساعة) للتكسيل . ويمكن أن تتأثر ويتوقف تكاثرها بفعل المضادات الحيوية .

تسبب الكلاميديا عدة أمراض منها :

1- مرض الببغاء (psittacosis) :

المرض الذي يصيب الطيور . وقد ينتقل للإنسان منتجاً أعراضاً سريرية تتراوح بين التهاب حاد في الرئة مع تعفن ومع ارتفاع في معدل الوفيات إلى حالة خفيفة غير واضحة الأعراض . يمكن مشاهدة السبب وزراعته من عينة من البلغم والدم ويحدث تضخم في الكبد والطحال والقلب والكلية مع احتقان .

2- مرض اللمف الحبيبي الجنسي (LGV):

وهذا مرض جنسي يظهر فيه بثور على الأعضاء التناسلية تنفجر مخلفة تقرحات رمادية اللون ويظهر ذلك في الذكور والإناث على حد سواء . وقد ينتشر المرض من خلال الأوعية اللمفاوية ليسبب تضخماً في العقد اللمفاوية خلال أسبوعين .

3- مرض التراخوما (Trachoma) :

وهو عبارة عن مرض يصيب العينين ومسببه مشابه لنفس مسببات الأمراض السابقة ، وقد تتطور حالة التهاب ملتحمة العين لتتطور إلى حدوث العمى .

التشخيص المخبري (Lab. diagnosis)

1- داء الببغاء

أ- عزل المسبب : تحقن عينات الدم والبلغم وأنسجة الرئة في حالة وفاة المريض في الفأر أو في أجنة البيض ويتم الكشف عن الإصابة بالتفاعلات المصلية أو بوجود أجسام داخلية كالتي في الخلايا البيضاء القاعدية .

ب- التفاعلات المصلية : تتكون أنواع من الأجسام المضادة خلال فترة الإصابة وتعتبر تجربة تثبيت المكمل من أكثر الفحوصات فاعلية في التشخيص، يجب إجراء الفحص في المراحل المبكرة والمتأخرة من المرض من أجل معرفة تركيز الأجسام المضادة.

تتطور الأجسام المضادة خلال أيام وقد يتأخر ذلك إلى 20-40 يوماً بسبب تعاطي المضادات الحيوية.

2- مرض اللمف الحبيبي الجنسي:

أ- تحضير اللطخات: من عينة قيح وورم العقد اللمفاوية (إنتفاخاتها) أو خزعة ، يمكن تحضير لطخة وصبغها وهذا نادرا ما يظهر المسبب .

ب- عزل السبب : تحقن أجنة البيض أو الفئران بالعينات المرضية مخلوطة بمضاد حيوي Streptomycin لمنع تكاثر البكتيريا ، ويشخص المسبب النامي من خلال صفاته الشكلية والتفاعلات المصلية .

ج- التفاعلات المصلية : من أسهل إجراءاتها تجربة تثبيت المكمل حيث تكشف عن الأجسام المضادة في مصل المريض حيث تظهر نتائج إيجابية بعد 2 - 4 أسابيع من بداية الإصابة ، وحينها يطور الجلد حساسية مفرطة .

د- فحص فرط حساسية الجلد : يحقن الأنتجين والمادة المعيارية (Control) وتؤخذ القراءة بعد 48-96 ساعة . لا تظهر المادة المعيارية أي تفاعل ولو بسيط فيما يظهر الأنتجين تفاعلا التهابيا بقطر 7ملم ممثلا للنتيجة الإيجابية .

3- مرض التراخوما

أ-عزل المسبب : تؤخذ كشطة من ملتحمة العين على شريحة زجاجية وتصبغ بطريقة جيمسا أو بالأجسام المضادة المرتبطة بصبغة الفلورسين حيث تشاهد الخلايا الطلائية محتوية على المحتويات السيتوبلازمية . ويحدث هذا في المرحلة المبكرة من الإصابة .

ب- التفاعلات المصلية : ينتج المصاب أجساماً مضادة غير حامية من إعادة الإصابة بالتراخوما ، ويشارك المسبب للتراخوما أنتيجينات الكلاميديا الأخرى في الصفات الأنتيجينية ، ولأنها غير متخصصة على مستوى النوع فإن أهميتها التشخيصية تكون ضئيلة .

الوحدة السابعة

الفطريات Fungi

أ – مقدمة عن العفن والخمائر وتسببها للأمراض السطحية التالية :

1. سعفة الرأس .
2. سعفة الجلد .
3. سعفة القدم .
4. داء المبيضات .

والأمراض العميقة التي تسببها الفطريات هي :

1. Aspergillus   2. Mucor   3. Cryptococcus

ب – الإصابة والتشخيص المخبري للأمراض الفطرية الواردة في الفقرة (أ)

الفطريات Fungi

تنقسم الفطريات إلى قسمين هما :

1- العفن Molds

2- الخميرة Yeast .

تصنف الفطريات الحقيقية (العفن) Eumycophyta إلى 4 صفوف هي :

1- Deutromycetes

2- Basidiomycetes

3- Ascomycetes

4- Phycomycetes

أ – العفن Molds :

الشكل Morphology

تظهر الفطريات بأشكال متغايرة تختلف باختلاف نوع الفطر علماً بأنه توجد صفات مشتركة بينها، يكمن الفرق بين العفن والفطريات الأخرى في التركيبة الثمرية Fruiting structure حيث تكون متشعبة مميزة في العفن بينما تكون أجسام ثمرية لحمية في الفطريات الأخرى .

يتركب جسم العفن من غصينات (Mycelium) ، وهي عبارة عن مجموعة من الخيوط المتشعبة تسمى Hyphae مفردها (Hypha) يوجد للـ Hyphae نوعان من الناحية الوظيفية هما :

1. الخيوط المتشعبة الخضرية Vegetative hyphae ووظيفتها الحصول على الغذاء .
2. الخيوط المتشعبة الهوائية التكاثرية Fertile (aerial) hyphae ووظيفتها إنتاج خلايا تكاثرية .

وإما أن تكون الخيوط المتشعبة مجزئة septate أو غير مجزئة أي متصلة aseptate .

انقسام العفن :

تنقسم الفطريات (العفن) بوساطة الطرق الجنسية وغير الجنسية التالية :

1. الانشطار Fission .
2. التبرعم Budding .
3. التبوغ Sporulation .

يعتمد شكل الخلايا الفطرية على طريقة التكاثر التي شوهدت في الفطر .

التكاثر اللاجنسي Asexual Reproduction

تسمى الفطريات التي تتكاثر لا جنسياً فقط بالفطريات الناقصة (غير الكاملة) Imperfect fngi وتنتج الأبواغ مباشرة بوساطة الغصينات أو منها . أبسط أشكال تكوين الأبواغ هو تطور الأبواغ مباشرة من الغصينات الخضرية ويسمى البوغ في هذه الحالة Thallospore وينقسم هذا النوع إلى ثلاثة أقسام هي :

1. Blastospores
2. Chlamydospores
3. Arthrospore

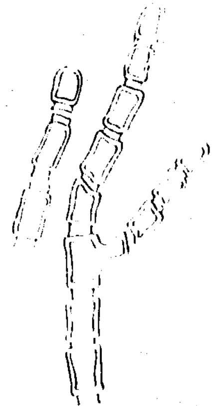
والشكل التالي يوضح هذه الأنواع



Blastospores



Chlamydospores



Arthrospores.

1- التكاثر الجنسي :

يختلف تكوين الأبواغ الجنسية من صف إلى آخر ، فمثلاً يتم إنتاج Oospores في فطريات الصف Oomycetes كنتيجة لدمج الخلايا الذكرية والأنثوية، وتنتج هذه المجموعة من الفطريات أبواغاً غير جنسية تسمى Zoospores متحركة .

ينتج العفن الأسود Black molds مثل Rhizopus و Mucor أبواغاً جنسية تسمى Zygospores بوساطة اتحاد الخلايا الطرفية لشعبتين متجاورتين .

تنتج الـ Ascomycetes أبواغاً جنسية Ascospores ناتجة من اتحاد خليتين في نفس الغصينات Mycelium أو من غصينات مختلفة . بعد الاندماج يتم إنتاج 8 أبواغ أو أقل بوساطة الانقسام غير المباشر وتغلف هذه الأبواغ بكيس يسمى Ascus .

تسمى الفطريات التي تتكاثر جنسياً بالفطريات الكاملة Perfect fungi

ب- الخمائر Yeasts :

يعتمد تصنيف الخمائر على الطريقة الجنسية في التكاثر ومقدرة الخميرة على الاستفادة من السكريات وتخميرها، فالعائلة Saccharomycetaceae تشمل جميع ما يلقب بالخمائر الجنسية أو الخمائر المكونة للـ Ascospores أما النوع الثاني فلا يكون Ascospores ويعتبر غير جنسي ويتبع لعائلات أخرى مثل Cryptococaceae أو Sporobolomycetaceae .

الشكل Morphology :

تعتبر الخمائر من ناحية عامة أكبر من البكتيريا بكثير، لكن أصغر الخمائر حجماً ليست مساوية لأكبر البكتيريا حجماً. تظهر عموماً بشكل البيضة، لكن البعض يكون دائرياً ،

والبعض الآخر به استطالة . وقد يظهر النوع الواحد بأشكال وأحجام مختلفة تعتمد على الظروف البيئية والعمر . لا تحتوي الخمائر على أسواط أو زوائد أخرى للحركة .

انقسام الخمائر :

تنقسم الخمائر وتتكاثر بالتبرعم Budding والتبوغ Sporulation ، وبالانشطار Fission، أما الطريقة الشائعة فهي التبرعم . يتم في التبرعم إرسال أنبوب باتجاه الخارج من الخلية الأم باتجاه الفجوة ويتكون نتوء على سطح الخلية ثم يمر الأنبوب من خلال جدار الخلية إلى النتوء أو الزائدة حيث تكبر وتمتلئ بالمواد النووية والسيتوبلازمية من الخلية الأم . لا يتكون جدار خلية يفصل البرعم عن الخلية الأم بشكل تام . يمكن لعدد من البراعم أن تكون على سطح الخلية الواحدة وفي مواقع مختلفة .

1. الفطريات الجلدية (السطحية) Dermatophytes

ينتمي لهذه المجموعة الأجناس التالية :

Trichophyton و Microsporum و Epidermophyton يشكل أعضاء الجنس الأول Trichophyton لنسبة الكبرى في تسببها للأمراض السطحية .

تسمى الإصابات الجلدية السطحية حسب موقعها فقد تصيب الجلد في أي مكان في الجسم ، وكذلك الشعر والأظافر .

أ– سعفة الرأس Tinea capitis :

التهاب فطري لفروة الرأس والشعر تسببها Trichophyton و Microsporum ، يتصف الالتهاب بتحرشف واحمرار وسقوط للشعر (صلع) وبقع متقرحة ، وهو منتشر في أمريكا الشمالية وكندا وبعض دول أمريكا اللاتينية .

الإصابة **Pathogenicity** :

تبدأ الإصابة كتحرشف صغير مع بثور محمرة مثقوبة بالشعر مثل هذه البثور تنتشر باتجاه الأطراف لتشكل بقعاً ، يصبح الشعر هشاً ويتقصف ثم يتساقط ، وقد ينتج حكة، ومن الممكن أن ينتج صلع في المنطقة ويمكن للإصابة أن تتعمق ويحدث تقرح ويصبح لون الشعر ، المصاب رمادياً .

يمكن لأنواع من الجنس **Microsporum** أن تنتقل إلى الإنسان وبخاصة الأطفال من مصدر حيواني (القطط والكلاب)، وتنتج هذه الأنواع عندهم التهابات متفرقة في فروة الرأس .

يمكن لأنواع أخرى من نفس الجنس أن تنتقل من إنسان إلى آخر ، وتسبب سعفة الرأس الوبائية .

ويمكن لأنواع من الجنس **Trichophyton** أن تسبب سعفة الرأس والتي تبدأ على شكل نقطة سوداء مستديرة وتظهر عند البالغين والأطفال ، وتسبب إصابة سطحية صغيرة متحرشفة تؤدي إلى أن يصبح الشعر رفيعاً ، ويحصل قطع للشعر بمستوى سطح جلد الرأس وتظهر على شكل نقطة سوداء .

تظهر هذه الإصابات بين الفقراء الذين يعيشون في مناطق مزدحمة، وتنتقل الإصابات بسرعة بين الأطفال في المدرسة .

التشخيص المخبري **Lab. diagnosis** :

1. أخذ شعرة مصابةووضعها تحت المجهر مع محلول 10 – 15٪ هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم ومشاهدتها .
2. زراعة الشعر المصاب المتساقط على SDA أو في داخل أنبوب يحوي SDA ثم تحضير شريحة لمشاهدتها مجهرياً وتشخيص الفطر زراعياً .

ب – سعفة الجلد Tinea corporis :

مرض جلدي فطري يتسبب من أنواع تتبع للجنسين Microsporum و Trichophyton . تشتمل الإصابة على الجلد الأملس وتتراوح بين تحرشف بسيط وإصابة تحببية عميقة .

الإصابة Pathogenicity:

يظهر موقع الإصابة احمرارات حلقية متحببة ، ذات مركز متحرشف وحافة متحببة بقشرة . يتراوح قطر موقع الإصابة من ½–5 سم . ويمكن أن تكون مفردة أو متعددة . يمكن أن تبدأ الإصابة من أي موقع في جلد الجسم .

يتعرض الأطفال للإصابة أكثر من البالغين ، وتكتسب الإصابة من الحيوانات. تنتشر الإصابة لتكبر وتتحول إلى احمرارات حلقية، ويحدث بها تصلب مع حكة ودون مركز واضح . بعض الإصابات تكون جافة وأخرى رطبة مع قشرة ، وفي حالات نادرة يمكن أن تتحبب وتتقيح . أغلب الإصابات لا تظهر عليها أعراض . يمكن أن تصيب جلد الوجه ويحدث لبس في تشخيصها لتشابهها مع إصابات أخرى غير فطرية .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

1. تمسح منطقة الإصابة بـ 70٪ كحول لإزالة البكتيريا ثم تجمع كشطات بوساطة أداة معقمة ، وتوضع الكشطات على SDA ثم في الحاضنة تحت 37° م أو تحت درجة حرارة الغرفة 25° م .
2. تؤخذ الكشطات وتوضع على شريحة زجاجية نظيفة ويضاف إليها قطرة من 10 – 15٪ هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم وتشاهد مجهرياً .


التهاب الجلد الفطري   الإصابة بسعفة القدم

جـ - سعفة القدم Tinea pedis :

التهاب فطري متكرر يصيب ما بين أصابع القدم وغالباً ما يسبب أنواع من الجنس Trichophyton والنوع *Epidermophyton floccosum*، ونادراً ما يسببه أنواع من الجنس Microsporum ، وكذلك الـ *C. alicans* .

الإصابة Pathogenicity:

تتميز الإصابة بغياب البثور وتتحدد البقع على كعب وباطن وجوانب القدم ، ويمكن أن تظهر على ظهر القدم. يظهر التحرشف على شكل النخالة ويظهر على قاعدة التهابية سميكة. يكون هذا الانتشار على شكل بقع أو قد يظهر على جميع أجزاء باطن القدم .

الحالة الأخرى قد تظهر على شكل تشققات بين الأصابع وبخاصة بين الأصبع الخامس والرابع. وتكون ذات لون أبيض مع خروج رائحة وذبول ورطوبة مع إفراز العرق .

وهناك حالة أخرى قد تظهر على شكل بثور ممتدة لتغطي الأصابع وظهر القدم، وقد تمتد إلى النعل، تظهر البقع كبثور منفصلة، تحتوي البثور على سائل لزج صافٍ وقد تتطور الحالة لتشتمل على إصابة الأوعية والغدد اللمفاوية .

تكثر الإصابات في المناطق الحارة والأقدام المتعرقة بكثرة، وقد تنتقل الإصابة إلى الأيدي وتظهر الأعراض السابقة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

أخذ كشطات جلدية وزراعتها على SDA وتشخيصها زراعياً وعمل تحضير رطب كما في الحالات السابقة .

الصفات الشكلية والزراعية للفطريات الجلدية (السطحية)

اسم الفطر	صفات المستعمرات	الشكل
Trichophyton mentagrophytes	بيضاء إلى سمراء مصفرة تشبه البودرة (المسحوق) أو القطن	خيوط hyphae ملتفه وأبواغ كروية متجمعة على شكل عنقودي على طول الخيوط
T.rubrum	مخملية ،بيضاء،محمرة أو أرجوانية وتكون الصبغة خلف المستعمرة	أبواغ على شكل الهراوة على جانب الخيوط
T. tonsurans	كريمي أو أصفر مع تجعد مركزي	أبواغ طولية على طول جانب الخيوط
T. schoenleini	ناعمة،شمعية بنية ملتفة بغير انتظام	خيوط منتفخة وأبواغ متجمعة مثل الثريا في نهاية الخيط
T. concentricum	مثل سابقتها	مثل سابقتها
T. violaceum	بنفسجية أو مثل سابقتها	مثل سابقتها
T. ferrugineum	برتقالية أو مثل سابقتها	مثل سابقتها
Microsporum auduini	مخملية،بنية،مع صبغة برتقالية فاتحة على الآجار	أبواغ نادرة ولكنها تظهر على شكل الهراوة
M. canis	غصينات قطنية بيضاء مع صبغة برتقالية لامعة على الآجار	أبواغ كثيرة وكبيرة على شكل مغزلي متعددة الخلايا وجدار سميك

M. gypseum	نمـو سـريع ، مثـل البـودرة (المسحوق) مثل لون القرفة	أبـواغ كثيرة مغزليـة الشـكل وسميكة الجدار
Epidermophyton Floccosum	مثل البـودرة (المسـحوق)لونها اخضر	أبـواغ كبـيرة مثـل الهـراوة ومتجمعة على شكل عنقودي

2- داء المبيضات Candidiasis

Candida albicans

تنمو الخلايا الشبيهة بالفطريات في طورين هما طور الـغصينات (Mycelium) ، وطور الخميرة (Yeast) .

الشكل Morphology :

يظهر طور الخميرة (الطور النسيجي) عندما تكون الظـروف مناسـبة ويظهـر طـور الغصينات (Mycelium) عندما تكون الظروف غير مناسبة .

تنمو جراثيـم الـ (Candida) بشـكل جزئـي كخلايـا خميرة دائريـة أو بيضاويـة الشكل وتتكاثر عن طريق التبرعم (Budding) وعند صبغها بطريق جرام فإنها تظهـر +g ، ولا تحتوي على محفظة ولا تكون الخلايا مرتبطـة في العـادة ، وقـد تحتـوي علـى براعـم أو تكون البراعم منفصلة. وتترتب الأبواغ Blastospore عنقودياً .

الإصابة Pathogeincity :

أهم نوع يمكن أن يكون ضاراً هو *C. albicans* ، حيث يسـبب التهابـات حـادة وشبه حادة في الإنسان والحيوان. وتوجد أنواع أخرى تابعة للجنس(Candida)، وهي :

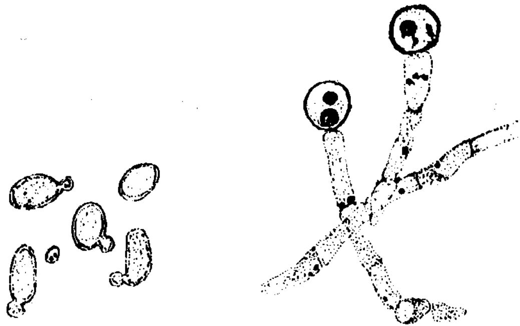
1. C. tropicalis

2. *C pseudotropicalis*
3. *C. krusei*
4. *C. parakrusei*
5. *C. stellatoidea*
6. *C. guilliermondii*

لقد وجد النـوع : *C. tropicalis* كسـبب في بياض الفـم (Oral thrush) ، وبياض المهبل (Vaginal thrush) ، وأكثر ندرة التهاب الشعب الرئوية والتهاب العظـام (Osteomyelitis) ، والتهاب النفرون (Nephritis)، وتعفن الدم Septicemia .

تسبب الـ *C. albicans* في الإنسـان التهـاب الجلـد السـطحي Superficial infction والتهاب الغشاء المخاطي في الفـم والمهبـل (Oral & vaginal thrush) ، وتسبب كذلك التهاب الشعب الرئوية والتهاباً معوياً ثانوياً ، وبشكل أقل يمكـن أن تسـبب تعفن الدم Septicemia والتهابات أخرى .

يعتمد الالتهاب بصفة عامة على آلية دفاع الجسم مثل حالة السكري (Diabetes) ، وسـرطان الـدم (Leukaemia) وفقـر الـدم بسـبب نقـص الحديـد (Iron deficiency anemia) ، وحالات أخرى .







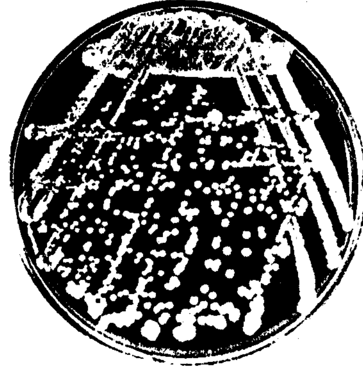
التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

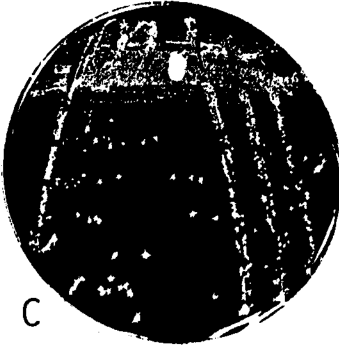
1. يجب عمل لطخة ملونة بصبغة جرام وأخرى من دون صبغ من البلغم وإفرازات الالتهاب مثل قطع صغيرة من المخاط مأخوذة من الفم والمهبل، وفحص هذه الشرائح مجهرياً . حيث تظهر البراعم مع الخلايا المستطيلة (الغصينات الكاذبة) غير المرتبطة مع بعضها البعض وتظهر الـ Blastospores على شكل عنقودي Clusters . يمكن

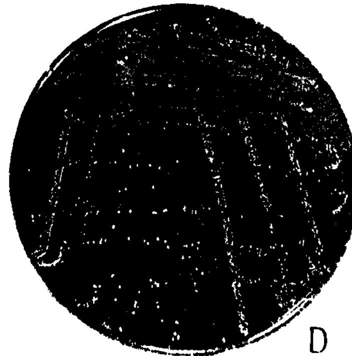
عمل التحضير المباشر مستخدماً 10 – 20 ٪ هيدروكسيد الصوديوم مع كشط الجلد والأظافر (Skin & nail scrapings) .

2. أما بالنسبة للزراعة فإن عينة الإفرازات (Exudate) تؤخذ على ماسحة (Swab) جافة وتوضع في (Sabouraud's broth) . وبعد ذلك تتم تنمية النمو على الـ (Blood agar) وعلى S.D.A (Sabouraud's dextrose agar) . في أطباق وعلى درجة 37 م . ويمكن زراعة العينات على Cornmeal Tween 80 Agar حيث يعتبر وسطاً مفرقاً يستطيع التمييز بين أنواع الـ Candida المختلفة .


A


B


C


D

بالنسبة للبراز والبلغم فإنها تزرع على أوساط اختيارية مثل (Tellurite agar) للحد من التلوث البكتيري .

3. استخدام نظام API - 20 C yeast system حيث تعتبر الآن أكثر طريقة تستخدم في تشخيص الخمائر ويحتوي الشريط على 19 قمعاً ، في كل منها لقيم Substrate جاف وتقارن النتيجة مع القمع الأول الذي لا يحتوي على نقيم لمعرفة النشاط الأنزيمي للنمو المحقون أي يلعب دور الفحص المعياري السلبي Negative control . تقرؤ النتائج وترصد إما عبر النموذج الخاص بذلك أو من خلال إدخال الشريط للحاسوب حيث إن الجهاز مزود ببرنامج يتمكن من خلاله تشخيص الجراثيم على مستوى النوع . وهذا النظام لا يخص الـ Candida فقط بل جميع الخمائر ويشمل ذلك Cryptococcus والـ Trichosporon وغيرهما . وهناك نظام Vitec Bioch. Card الذي يحوي 30 فحصاً حيث يتميز بدقة أعلى من نظام API - 20C .

الصفات الزراعية .Cultural char

هوائية وتنمو بشكل جيد تحت درجة 37°م أو تحت درجة حرارة الغرفة . تنمو على الأوساط العادية وأفضل وسط يمكن تنميتها عليه S.D.A وتظهر المستعمرات كبيرة الحجم مثل الكريمة وتشبه مستعمرات البكتيريا وتتطور خلال 2 – 3 أيام . وعلى الـ B.A يكون حجم المستعمرات أصغر ولونها رمادياً . وتنمو بشكل جيد على Conmeal Tween - 80 Agar حيث تظهر أنواع الـ Candida صفات شكلية مميزة عند فحص النمو المأخوذ من هذا الوسط مجهرياً . ومن الأوساط المفرقة والمستخدمة حالياً في المختبرات الوسط Chrom - Agar .

حيث تظهر صفات المستعمرات لأنواع الـ Candida المختلفة كما يلي :

1. تظهر مستعمرات الـ *C. albicans* بلون أخضر .
2. وتظهر مستعمرات الـ *C. krusei* بلون بنفسجي .
3. وتظهر مستعمرات الـ *C. tropicalis* بلون أزرق .

وقد قدمت هذه النتائج ضمن بحث ألقـي في المؤتمر الأردنـي الأول للعلـوم الطبيـة المخبرية المنعقد في عمان في شهر آذار 1997 .

4. تجربة الأنبوب الجرثومي Germ tube test : تجرى هذه التجربة عند الشك بأن النمو يعود للنوع *C. albicans* ويمكن إجراؤها كما يلي : ازرع الخميرة على وسـط يحتـوي على الببتون، ثم اضف من هذه الزراعة جزءاً بسيطاً يحتوي على مصل إنسان أو حصان طازج واحضن تحت درجة 37°م . حضر علـى شـريحة زجاجيـة نظيفـة معلـق بعـد كـل ثلاثين دقيقة وحتى 3 ساعات كحد أعلى وانظـر باحثاً عـن أنبـوب جرثومـي (Germ tube) منحنٍ يكون قد تطور من طرف بعض خلايا الخميرة .

3- الإصابات الفطرية العميقة وتشمل :

أ- Aspergillus

تعتبر الأنواع التابعة لهذا الجنس من أكثر مسببات مشاكل التلوث في المختبرات . بعض الأنواع ضارة وتسبب أمراضاً في أنسجة الإنسان والحيوان .

تتميز الإصابة بهـذا الفطـر Aspergillosis بوجـود التهـاب تحبـبي في الجلـد والأذن الخارجيـة والجيـوب الأنفيـة ومحجـر العـين، والعـين، والرئتـين ونـادراً البلعـوم الأنفي والمهبل والرحم، وصمامات القلب والتجويف الجنبي والتجويف الصـدري والعظـام والدماغ والسحايا .

الإصابة Pathogenicity :

تعتبر الطبيعة مصدر الإصابة بهذا الفطر حيث إنه كلي الوجود في الطبيعة . ويملك الإنسان الطبيعي الذي يتمتع بصحة جيدة مقاومة ضد الإصابة بهذا الفطر . ومعظم الحالات التي سجلت كان أصحابها يشكون من نقص في المقاومة بسبب إصابتهم بالسل أو سرطان الرئة أو سرطان الدم أو أمراض لمفاوية .

يتعرض البالغون للإصابة أكثر من الأطفال والذكور أكثر من الإناث ، وأكثر أصحاب المهن تعرضاً للإصابة هم :

1-مطعمو الحمام الذين يضعون البذور في أفواههم للترطيب ويستنشقون الأبواغ خلال ذلك .

2-منظفو الفروات .

3-الفلاحون الذين يتعرضون للغبار من درس الحبوب .

تنقسم الإصابة إلى عدة أنواع هي :

1. النوع التحسسي Allergic type :

يمكن أن يكون الفطر Aspergillus مسبباً في تحسس الرئة والأنف دون غزو حقيقي للأنسجة. ويؤدي ذلك إلى استحثاث إنتاج أجسام مضادة مرسبة (IgG) Precipitin وأجسام مضادة تحسسية من نوع (IgE) . واتحاد هذه الأجسام المضادة يؤدي إلى تشتيت الإفرازات الرئوية مما يقود إلى ارتفاع الخلايا البيضاء الحامضية Eosinophillia في البلغم والدم ومواقع الإصابات الرئوية .

2. النوع التعفني Saprophytic type :

إنه ليس من المدهش أن تجد أبواغ الـ Aspergilli مكاناً مناسباً ووسطاً جيداً في فتحات الرئتين، حيث أماكن الالتصاق والارتباط والغذاء الغني والأكسجين الحر. ويفضل

هذا الفطر عمل مستعمرات في فجوات تم إنتاجها بأمراض أخرى سابقة مثل السل وغيره . من مسببات الفجوات الرئوية حيث يبقى فطر الـ **Aspergillus** بعد علاج السل واختفاء خروج البلغم .

العديد من المرضى بهذا الفطر لا يظهرون أعراضاً أو يظهر عليهم سعال وخروج بلغم متقيح وبعضهم مع دم . وقد يظهر هذا النوع في الأذن والجيوب .

3. النوع الالتهابي **Infectious type** :

لا يعتبر الالتهاب بسبب هذا الفطر أمراً شائعاً في الأشخاص الأصحاء بيد أنه يظهر خلال عملية تشخيص دقيقة أو خلال استعمال غير منظم لهرمون الـ **Corticoid** .

يؤدي هذا النوع من الإصابة إلى ظهور تغيرات رئوية يمكن الكشف عنها شعاعياً، وقد وجدت حالات إصابة التهابية في جحر العين والجيوب الأنفية والدماغ. أما إصابة الأذن فهي الأخرى حالة شائعة وتتصف بإصابة جلدية سطحية مثيرة لإفرازات سوداء . وقد سجلت حالات التهاب الجيوب وملتحمة العين وجفن العين وجحر العين كذلك كما ورد سالفاً، وقد سجلت حالات التهاب الجهاز التناسلي .

الإصابة العامة والانتشارية قليلة بسبب هذا الفطر، وفي حالة حدوثها تكون قاتلة. فيمكن للإصابة أن تبدأ بالرئة ثم تنتشر إلى أعضاء أخرى أو أن يصاب التجويف الصدري والعقد اللمفاوية .

التشخيص المختبري **Lab. diagnosis** :

تعد أنواع الـ **Aspergillus** من ملوثات المختبرات الشائعة، وقد عزلت من زراعة عينات ملوثة مثل البلغم والكشطات الجلدية . حتى إن عزل هذه الأنواع بشكل

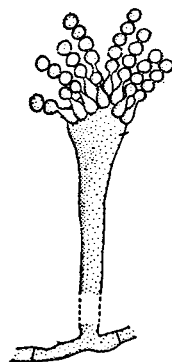
متكـرر مـن هـذه العينـات لا يـدل قطعاً على أنها هـي المسبب البدائـي للإصابـة. عـزل *A. fumigatus* و *A. niger* من حالات التهابية حقيقية، والأقل منها تكـراراً في تسبب الإصابات *A. clavatus* و *A. favus* ,*A. versicola* ، وتحت ظروف خاصة يمكـن لأنواع أخرى أن تسبب إصابات مثل *A. glaucus* وغيره. يتم التشخيص مخبرياً من خلال :

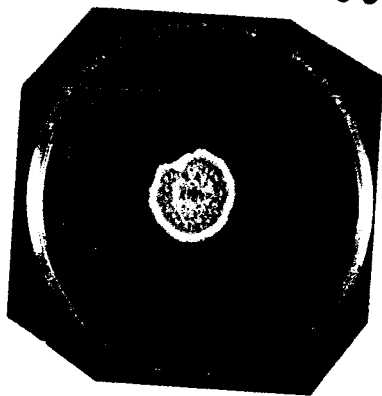
أ- التحضير المباشر : يتم عمل تحضير رطب لعينة بلغم على شريحة زجاجية مع محلول هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم بتركيز 10 - 15٪ وتغطيتها بغطاء الشريحة وتفحص مجهرياً . إذا كان الفطر نامياً على سطح الشعب الرئوية فسيظهر على شكل سـدادة محتوية على رؤوس الأبواغ مطمورة في الغصينـات . أمـا التحضـيرات الأخـرى فإنها تظهـر على شكل قطع مكسرة من التشعبات **Hyphae** .

ب- الزراعة :

يجب زراعة العينات المشتبه بها على **SDA slant** ، ويحتفظ بها تحت درجة حرارة الغرفة . يظهر النمو بسرعة ، ويكون في البداية أبيض على شكل زوائـد تنمـو علـى سطح الوسط ، لكن سرعان ما تتغير إلى خضراء داكنة بسبب إنتاج الأبواغ .

أفضل طريقة لمشاهدة رؤوس الأبواغ هي حني أنبوب النمو تحت العدسـات الجافـة ذات التكبير المنخفض حيث تشاهد سلسلة طويلة من الأبواغ . عند تحضير العينـة المجهريـة يجب اخذ النمو الهوائي ومزجه مع قطرة المحلول لتكوين معلق وتغطيته بغطاء الشريحة .





ب- Cryptococcus :

يسبب فطر الـ *C. neoformans* التهاباً مزمناً شبه حاد يشمل الرئتين والجلد ، وأعضاء أخرى من الجسم ويمكن أن ينتشر ليصل الدماغ والسحايا .

الإصابة Pathogenicity:

مصادر الإصابة مختلفة، فقد عزل هذا الفطر من الجلد وبراز الإنسان الطبيعي ثم وجد في الحليب دون إصابة البقر، عزل كذلك من التربة التي اعتبرت مصدر تلوث الحليب، ومصدر إصابة الإنسان والحيوان . سجلت أكثر الحالات في البالغين والذكور أكثر من الأطفال والنساء.

لقد فرض بأن الفطر يدخل إلى جسم الإنسان عن طريق التنفس، وأيد ذلك بوجود حالات التهاب رئوية كثيرة. وقد ظهرت حالة التهاب رئة بعد التأكد من الإصابة بالتهاب السحايا بهذا الفطر، وهذا دليل على إمكانية دخول الفطر من خلال البلعوم الأنفي والأمعاء والجلد. وقد سجلت حالات إصابة بأنسجة الطبقة تحت الجلدية والعقد اللمفاوية واللسان والركب وعضلات الظهر والحوض، وقد تنتشر إلى الدماغ والسحايا .

يظهر على المريض في حالة التهاب الرئة حمى منخفضة وسعال معتدل . بعض المرضى لا يخرجون البلغم وبعضهم يخرجون بلغماً مخاطياً، ونادراً مع دم .

يمكن أن تتطور الحالة إلى حالة سل رئوي متليفة من دون أن تسبب السل . وقد ثبت أن هذه الحالة عبارة عن إصابة رئوية مزمنة عزل منها فطر لـ Cryptococcus . أما الإصابة العصبية المركزية فإنها تبدأ بصداع في الجبهة متقطع ويتطور ليصبح دائماً وشديداً. تكون البداية مفاجئة بصداع شديد وتقيؤ ودوخة وتشنج وألم في الظهر والرقبة . ومع تطور الحالة تحدث اضطرابات عقلية مع هبوط .

تشتمل الإصابة على التهاب السحايا ويحدث نتيجة لذلك تشنج في عضلات الرقبة وأعراض متطورة أخرى كثيرة .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis:

يحدث بعض التغيرات في جسم المصاب مثل ارتفاع شديد في ESR وحالة معتدلة من فقر الدم الناتج عن وجود خلايا حمراء شاحبة . ويرتفع عدد الخلايا البيضاء في سائل النخاع الشوكي ليصل بين 200–800 خلية / ملم^3. قد يبقى السائل صافياً أو قد يتعكر ، يرتفع البروتين في السائل ويقل السكر وتشبه هذه التغيرات التهاب السحايا السلي .

الفحص المباشر :

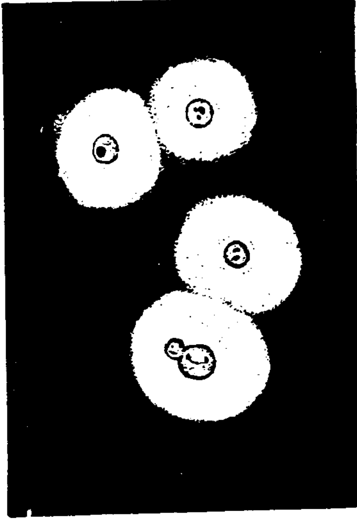
يتم عمل تحضير مباشر على الشريحة من عينات القيح والبلغم والسائل الشوكي والتقرحات أينما وجدت وتشاهد مجهرياً .

يجب تخفيف ضوء المجهر لمشاهدة المحفظة (كابسول) الشفافة حول الخلية في التحضير غير الملون . ويمكن إضافة قطرة من صبغة الحبر الهندي India Ink تحت غطاء الشريحة. يشاهد الفطر على شكل خلية منفردة بيضاوية مع برعم ذي جدار سميك مثل الخميرة محاط بطبقة عريضة من المحفظة الجلاتينية. تظهر المحفظة بشكل أوضح مع الحبر الهندي .

الزراعة :

تزرع العينات على Blood agar وعلى Beef infusion glucose agar وتحت درجة 37 م وعلى SAD تحت درجة حرارة الغرفة . يمكن إضافة Chloromycetin لمنع نمو البكتيريا .

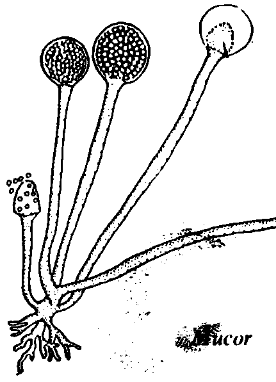
على الـ .S.D.A يبدأ النمو الملـون بالتطور وفي هـذه الحالـة لا يوجـد إلا الخلايـا المتبرعمة حيث يتكاثر الفطر بالتبرعم ولا ينتج أبواغاً داخلية .



((خلايا قيحية مع براعم الفطر المحاطة بطبقة من المحفظة أو الكـابسول))

جـ - Mucor :

يشارك هذا الفطر فطريات أخرى هي Rhizopus و Basidiobolus في تسـبب الحالة المرضية المسماة Phycomycosis ، الحالة التي يتوافق وجودها مـع حـالات مرضيـة أخرى مثل السكري والسرطان وعقـب تنـاول الأدويـة السـرطانية مـع المضـادات الحيويـة وعلاج الـSteroid . تعرف الإصابة Phycomycosis بأنها مرض فطـري التهـابي حـاد يتميز ببثور متخثرة تتسبب من جراء غزو جدران الأوعية الدموية من قبـل الفطـر أو حالـة التهاب فطرية للأنسجة تحت الجلدية .



الإصابة Pathogenicity :

تظهر هذه الفطريات في التربة والسماد وعلى الفواكه، وتسمى عادة عفن الخبز، وقد تتصاعد الأبواغ الفطرية إلى الهواء وتدخل إلى الجيوب الأنفية والرئتين من خلال تنفس الإنسان والحيوان . وربما تدخل الأبواغ مع الطعام لتسبب التهابات معوية وقد تدخل إلى الأنسجة تحت الجلدية لتسبب التهابات فيها . لا تنتقل العدوى من شخص لأخر أو من حيوان لإنسان .

تحدث الإصابة في الأنف والجيوب الأنفية والتي من المحتمل ان تنتقل إلى الجمجمة. ويظهر المريض في هذه الحالة أعراضاً عصبية وعمى جانبياً منفرداً وفقداناً لوظيفة العصبين الخامس والسابع من الجمجمة (القحفية).

يظهر المخاط الأنفي باللون الرمادي المسود مشابهاً لخثرة الدم الجافة . تتطور الإصابة الجمجمية في حالة السكري الحامضي (السكري الذي يحدث فيه حامضية للدم) مع ظهور الأعراض المذكورة سالفاً . ويسبب دخول الفطر من خلال الشرايين المغذية للعين والشرايين السباتية الداخلية وبسبب الخثرة (الجلطة) ربما تتطور حالة الاحتشاء (الانسداد) الدماغي والسحائي .

تقود الإصابات العصبية إلى حالة من السكري غير المسيطر عليها والتهاب في السحايا الدماغية . وقد وجدت حالات كثيرة من الالتهابات الدماغية والسحائية كمضاعفات لإصابة الأنف والجيوب .

يكون التهاب الرئة نادراً في حالـة هـذا الفطـر كإصابـة ثانويـة لالتهـاب بدائـي في الأنف والجيوب .



التشخيص المخبري Lab. diagnosis:

يتم جمع العينات حسب المناطق المصابة ويجرى عليها ما يلي :

1. الفحص المباشر :

وذلك بعمل معلق على شريحة زجاجية وتغطيها بغطاء الشريحة ومشـاهدتها مجهريـاً باستخدام العدسات الجافة. إن نظرة على هذه الشريحة كافية لتشخيص سبب الحالة المرضية ، وذلك بسبب سهولة التمييز بين أنوا ع الفطريات المذكورة سابقاً .

2. الزراعة :

زراعة العينـات المجموعـة علـى SDA في جـو الغرفـة حيـث يظهـر النمـو بسـرعة وغزارة، ومع تطور الأبواغ يبدأ اللون الأسود بالظهور .



الوحدة الثامنة

فحص العينات لتشخيص البكتيريا

1. زراعة البول .
2. زراعة البراز .
3. زراعة مسحات الجهاز التناسلي .
4. زراعة مسحات الحلق والفم .
5. زراعة البلغم .
6. زراعة سائل النخاع الشوكي .
7. زراعة الدم .
8. زراعة مسحات العين.
9. زراعة مسحات الأذن .
10. زراعة مسحات الجروح والحروق .

قبل الشروع في شرح زراعة البول لا بد من توضيح قواعد جمع العينات بصفة عامة وإذا كان هناك أية خصوصية لعينة ما فإنها تذكر في حينه.

يجب عند جمع العينات الأخذ بالمحددات التالية :

1. عدم جمع العينة من المريض المتعاطي للمضادات الحيوية أو العوامل المضادة للجراثيم وإذا كان المريض قد تعاطى ذلك فيمكن الانتظار لمدة 3 أيام بعد آخر جرعة تناولها المريض ثم تجمع العينة أو يمكن إضافة مواد محللة للمضاد الحيوي المتعاطى إلى العينة أو الأوساط الزراعية المستخدمة .
2. جمع العينة من المكان المتوقع وجود المسبب فيه بإسلوب يمنع التلوث ما أمكن .
3. تحديد مرحلة الإصابة ومكان وجود المسبب في تلك المرحلة وهذا يتم بالتعاون بين الطبيب والمختبر .
4. يجب جمع كمية كافية من العينة لإجراء جميع الفحوصات اللازمة .
5. إذا جمعت العينة خارج المختبر فلابد من تسليم العينة للمختبر بسرعة .
6. يجب جمع العينة بادوات معقمة وفي حاويات معقمة وربما تحتاج العينة إلى وسط نقل مناسب إذا كان هناك وقت بين الجمع والزراعة .
7. إذا كان متوقعاً وجود جراثيم لاهوائية في العينة فيجب جمع العينة بوضعها في حاوية مفرغة من الهواء وتحتوي على Co_2 أو محتوية على مواد مختزلة للأكسجين .
8. إذا احتوت العينة على أعداد كبيرة من الساكن الطبيعي فيفضل حفظ العينة تحت درجة 5م لعدة ساعات لحين الزراعة وإذا كان متوقعاً وجود جراثيم لاهوائية فيفضل حفظها في درجة حرارة الغرفة وهذا الإجراء يساعد على حفظ المسبب ويمنع مزيداً من تكاثر الساكن الطبيعي .
9. تنقل العينات المحتوية على فيروسات محفوظة في الثلج للمختبرات المركزية لغايات الزراعة .
10. يجب أخذ الحيطة والحذر عند تداول العينات المحتوية على جراثيم خوفاً من تلوثها نفسها وإصابة الفاحص أو جامع العينة .

زراعة البول Urine Culture

يفضل أن تكون العينة متوسطة الموقع أي يتم التخلص من أول دفعة من البول ثم تجمع الدفعات التالية ويتم تجنب جمع آخر كمية وتسمى هذه Mid Stream Urine (MSU) سواء كان المريض ذكراً أم أنثى . يمكن جمع عينة مثانية بوساطة القسطرة البولية مع العلم بأن احتمال تلوثها بجراثيم الاحليل أثناء إدخال الأنبوب أمراً قائماً. ويجب الانتباه إلى عدم صلاحية عينات البول من كيس القسطرة بسبب زيادة العدد في الكيس ومن البدهيات في زراعة البول ضرورة وجود أعراض سريرية كمبرر لطلب الزراعة .

يعتبر البول وسطاً مناسباً لنمو الجراثيم التي تصيب الجهاز البولي بالالتهابات، وعندما توجد البكتيريا في البول فإنها تتزايد بسرعة هائلة بحيث يزيد عددها عن مليون خلية بكتيرية في كل مللتر من البول .

بالرغم من أن عينات البول سواء المجموعة مباشرة من الفتحة البولية إلى الحاوية والتي تسمى (Clean voided) أو المجموعة عن طريق القسطرة من المثانة (Catheterized) يمكن أن تتلوث أثناء الجمع فإن عزل الجراثيم وحتى الضارة منها والمعروفة لا يعني بالضرورة تشخيص حالة التهاب في القناة البولية .

عندما يكون عدد البكتيريا أكثر من مئة ألف وحدة تكوين المستعمرة Colony forming unit(CFU) / مللتر أي 10^5/ مللتر من البول، فإن ذلك يشير إلى أهمية تشخيصة، بينما تكون العينة من الإنسان الطبيعي الذي لا يعاني من وجود التهاب، تكون معقمة أي أنها لا تحتوي على أي CFU، أو يمكن أن تحتوي على عدد من CFU لا يتجاوز في أي حال إل 1000 CFU/مللتر .

يجب ملاحظة ان عدد البكتيريا الذي يقل عن مليون خلية في كل مللتر من البول يمكن ظهوره في المرضى الذين يتعاطون علاجات مضادة للبكتيريا Anti bacterial therapy . وقد تغيرت أسس تفسير نتائج زراعة البول خلال السنوات الأخيرة .

فيشـير كتـاب Diagnostic Microbiology تـأليف Bailey and Scott's طبعة عام 1994 إلى الأسس التالية في تفسير النتائج .

- 10^4 CFU /ML لنوع واحد مرضي من البكتيريا يكون ذا أهميـة سـريرية ويحتـاج إ متابعة كاملة .
- $\geq 10^4$ CFU /ML لنوع واحد مرضي ربما يعني التهاباً .
- $< 10^3$ CFU/ML مهم للذكور وللإناث اللواتي يظهرن أعراض التهاب المسالك البولي
- $< 10^2$ CFU /ML يتم إرسال تقرير بذلك للطبيب ويتم تشخيص البكتيريـا ولا يجـر فحص الحساسية إلا إذا طلب .
- ظهور نمو نقي لـ *S. aureus* يعتبر ذا أهمية بصـرف النظـر عـن العـدد ويجـرى فحـص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .
- وجود yeast خميرة بأي عدد يتم تقريره للطبيب وتشخص على مستوى النوع .

وهـذه أسمـاء الجراثيـم الـتي تتواجـد بشـكل متكرر في البول الطبيعي وهي :

Diptheroid
Staph. coagulase - ve
β - hemolytic Strep.
Colifrom bacilli
Bacillus Spp.
Saprophytic Yeast

بينمـا في حالـة البـول المصـاب يمكـن ظهور واحدة أو أكثر من الجراثيم التالية :

Enterobacter - klebsiella
E. coli
Providencia species
Proteus merabilli
Enterococci
Streptococcus facalis
Pseudomonas aeruginosa
Alkaligenes species
Staph. coagulase + ve & - ve
Candida albicans
Neisseria gonorrhoeae
β- hemolytic strep. group B & D
Salmonella & shigella
Tubercle bacilli(T.B.)

طرق الزراعة Culture procedure

يمكن حفظ العينة تحت 4 – 5°م لمدة 24 ساعة من دون أي تأثير على العدد ويمكن وضعها في وسط حافظ مثل Becton-Dickinson يحوي Boric acid و glycerol و Na - formate ولمدة 24 ساعة من دون أي تغيير ، حيث يقوم Boric acid بحفظ الجراثيم حية ولمدة 24 ساعة بشرط عدم وجود مضادات حيوية . ويمكن استخدام النظام الجاف في الحفظ ولمدة 24 ساعة حتى لو احتوت العينة على مضادات حيوية .

هناك عدة مختبرات ترسب عينة البول على جهاز الطرد المركزي وتأخذ الراسب وتحقنه في أوساط سائلة أو على أوساط صلبة او تحقن البول مباشرة في الوسط السائل أو على الوسط الصلب .

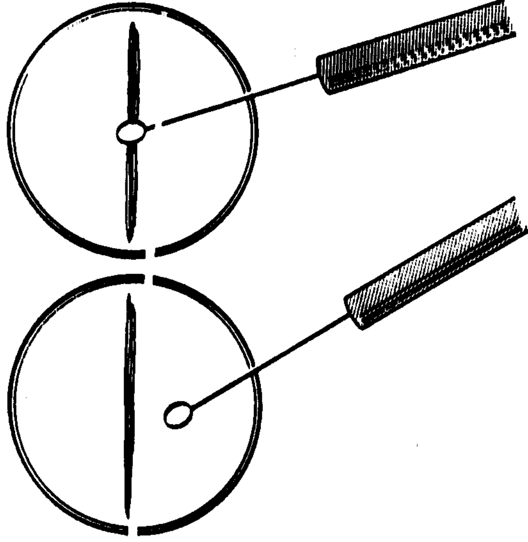
طريقة التخطيط المباشر Calibrated loop direct streak method

إن استخدام هذه الطريقة يجعل لسلك الحقن المعاير Calibrated bacteriolo ical loop اهمية عملية . فبعد الحضانة Incubtaion المناسبة يجب عد المستعمرات النامية على سطح الوسط ووضعها في تقرير لكي يمثل درجة وجود البكتيريا في البول Degree of bacteriuria ، وتستعمل هذه الطريقة في طرق المسح المختبرية وتتم بالخطوات التالية :

1. إمزج عينة البول جيداً ثم عقم wire loop معاير بقطر 4 ملم بوساطة اللهب ثم أدخله عمودياً في حاوية العينة ثم أخرجه، سيكون حجم البول المحمول 0.01 سم3 .

2. على سطح أوساط صلبة مثل Blood Agar و EMB او MacC. Agar انشر العينة إما بطريقة التخطيط الربعية بحيث لا يحرق الـ wire loop بين التخطيط والذي يليه أو بوضع حلقة السلك بما تحمل من عينة في مركز الطبق ثم يعمل خط نحو اليمين

والشمال ماراً بنقطة المركز حتى حافتي الطبق لعدة مرات ثم تسحب حلقة السلك من دون أي إضافة جديدة للعينة أو حرق لحلقة السلك. وكما هو موضح في الشكل التالي.



تستخدم بعض المختبرات الأوساط CLED و Culumbia Colistin nalidixic acid agar . (CNA)

3. ضع الطبقتين في الحاضنة تحت درجة 37م، واقرأ النتائج في صباح اليوم التالي. تفحص المستعمرات من حيث النوع والعدد على الطبقين ، تحقق من عدد البكتيريا النامية على (Blood agar) والـ g -ve بكتيريا من على (EMB) او (MacConkey's) ويضرب عدد المستعمرات بـ 100 (01. مللتر استعملت) .

4. اذا لم يظهر نمو بعد 24 ساعة يحتفظ بالأطباق ليوم آخر وإذا ما زالت النتيجة سلبية يجب إعطاء التقرير كما يلي (No growth after 48 hours) لا نمو بعد 48 ساعة من الحضانة .

طريقة الصب Pour plate method :

تبقى هذه الطريقة هي الأدق، وتتلخص الخطوات بما يلي :

1. حضر ثلاثة أنابيب يحتوي كل واحد منها على بول مخفف بالماء المقطر المعقم والممزوج جيداً وكما يلي :

1 :10 = 1 مللتر بول + 9 مللتر ماء مقطر معقم .

1 :100 = 1 مللتر من التخفيف السابق (1 : 10) + 9 مللتر ماء مقطر معقم .

1 :1000 = 1 مللتر من التخفيف السابق (1: 100)+9 مللتر ماء مقطر معقم .

2. اسحب بالماصة (Pipette) 1 مللتر من كل تخفيف وانقلها إلى أطباق معلمة بالشكل المناسب، ومعقمة . ولذلك سيكون هناك ثلاثة أطباق لكل تخفيف طبق ومكتوب علية نسبة التخفيف .

3. أضف إلى التخفيف 15 – 20 مللتراً من (Nutrient agar) في حالة سيلان وباردة (50°م) واخلط جيداً .

4. بعد أن يتصلب الوسط اقلب الأطباق وضعها في الحاضنة تحت درجة 37م ، لمدة 24 ساعة .

5. عد المستعمرات النامية واضرب العدد في نسبة التخفيف لكي تحصل على عدد البكتيريا/ مللتر من البول .

6. أجر تجربة حساسية البكتيريا حسب طريقة Kirby - Bauer .

زراعة البراز Stool Culture

يشكل أعضاء العائلة المعوية **Enterobacteriaceae** الجزء الأكبر من الجراثيم الهوائية الموجودة في القناة المعدية المعوية للإنسان الطبيعي . وحوالي 65 نوعاً من الفيروسات عزلت من القناة المعدية المعوية للإنسان الطبيعي .

يلعب الساكن الطبيعي دوراً مهماً في آلية الدفاع عن العائل ضد الجراثيم الضارة فقد وجد أنه كلما نقص عدد الساكن الطبيعي نتيجة لتعاطي المضادات الحيوية أو لأي سبب يتعلق بالعائل كلما نقصت مقاومة العائل ضد الإصابة وبشكل ملموس .

وأكثر الأمثلة التي تمثل هذا الدور حالة التهاب القولون المرتبطة بالمضادات الحيوية **antibiotic - associated Colitis** والتي تسمى كذلك بالتهاب القولون الغشائي الكاذب **Pseudomembranous Colitis (PMC)** الحالة التي تسببها البكتيريا ***CL. difficile*** واحياناً ***S. aureus*** .

وتلعب حامضية المعدة دوراً غير متخصص ضد الجراثيم بصفة عامة . وأما الحركة التموجية للقناة الهضمية فإنها تدفع بالجراثيم باتجاه الشرج مما يقلل فرصة التصاق الجراثيم الضارة بالأغشية المبطنة للتجويف الهضمي .

ويلعب إفراز **IgA** والخلايا الالتهامية دوراً في القضاء على الجراثيم الضارة الداخلة . ولكي تحدث إصابة القناة الهضمية لا بد من أن تمتلك الجرثومة المسببة للالتهاب قدرات تتغلب فيها على عامل أو أكثر من عوامل الدفاع التي يمتلكها العائل أو أن تدخل الجرثومة في وقت يكون فيه واحد أو أكثر من آليات الدفاع الطبيعية معطلة أو ضعيفة . ومثال ذلك دخول الجراثيم مع الحليب يعطيها فرصة كبيرة في إحداث الإصابة وتجاوز حامضية المعدة بسبب أن الحليب يعادل حموضة المعدة وتستطيع بعض أنواع البكتيريا تتحمل حامضية المعدة مثل **T.B** و**Shigella** و ***CI. difficile*** القادرة على إنتاج الأبواغ وفي هذه الحالة تحتاج هذه الأنواع من البكتيريا إلى كميات قليلة لإحداث الإصابة على عكس الأنواع الحساسة للحموضة مثل **Salmonella** .

وتتلخص آلية حدوث الإصابة في القناة الهضمية بما يلي :

1. إنتاج السموم التي تؤثر على إفراز السوائل أو وظائف الخلايا أو الوظائف العصبية .

2. النمو داخل أو ملاصق لخلايا الغشاء المخاطي مما يقود لتدميرها أو إحداث خلل بوظائفها .

3. نمو الطلائيات المخاطية التي تؤدي إلى التدمير الخلوي وأحياناً إلى غزو مجرى الدم وحصول إصابة جهازية .

4. الإلتصاق بالغشاء المخاطي للأمعاء ومنع الامتصاص والإفراز .

عزل Isolation of salmonella & shigella

توجد الـ (Salmonella & shigella) في البراز (Stool) بأعداد كبيرة فقط في المراحل الحادة المبكرة من الإصابة أي في الثلاثة أيام الأولى من الإصابة بالإسهال، ولذلك يجب جمع عينة البراز خلال هذه الفترة. تؤخذ أجزاء من البراز الذي يحتوي على الدم والمخاط حيث تكون العينة طازجة لحقنها في أوساط مناسبة، وإذا كان الحصول على البراز صعباً او مستحيلاً فيمكن أخذ مسحات من المستقيم (Rectal swab) كبديل للحصول على الزراعة .

وضمن الإمكانيات، يفضل عمل زراعة للبراز لعدة مرات متتالية، ولعزل الـ Sal. & Shig. تستعمل الأوساط التالية :

1.أوساط مفرقة غير اختيارية : Differential non - selective media

(E.M.B.) او (MacConkey's) حيث تمنع نمو بكتيريا الـ g + ve . يعتمد التمييز بين البكتيريا المعوية (Enteric bacteria) على تخمير البكتيريا للاكتوز، فالتي تخمر اللاكتوز تتلون مستعمراتها باللون الزهري، والتي لا تخمره تظهر مستعمراتها دون لون والـ Sal. & Shig من النوع الثاني .

2.الأوساط المفرقة ومتوسطة الإختيارية :

Differntially moderately selective media

و مثال ذلك S.S.agar(Salmonella-Shigella agar) والـ (Desoxycholate citrate agar) D.C.A، وأوساط إختيارية بشكل حاد مثل الـ -Kauffmann brilliant green agar التي تدمر نمو أنواع كثيرة من الـ Coli from خاصة الـ (Escherichia) والـ (Proteus) ، ولكن تسمح لنمو الـ Shigellaو Salmonella . والبكتيريا التي تخمر اللاكتوز تتلون مستعمراتها باللون الزهري، ولكن تظهر الـ Sal. & Shig. من دون لون لأنها لا تخمر اللاكتوز .

3.الأوساط الغنية الأختيارية : **Selective enriched media**

ومثال ذلك broth selenite Leifson او Mueller tetrathionate broth حيث تحتوي على مواد كيميائية مختلفة (Citrate, desoxycholate, tetrathionate)، حيث تمنع نمو الـ g + ve بكتيريا وتحد من نمو الـ Coliform والـ Proteus بينما تحث على نمو الـ Sal. & Shig . وقد ثبت بالبحث العلمي أن افضل وسط لعزل وتنمية الـ Shigella هو XLD

خطوات العمل **Procedure** :

1. مستعمل ماسحة قطنية : (Cotton swab)، احقن بغزارة الـ D.C.A, B.G.A, وS.S agar وXLD أو MacConkey's من العينة الطازجة، ثم خطط بالماسحة لـ Swab لكي تحصل على توزيع جيد. ويمكن استعمال معلق من المواد الإخراجية بالأوساط الغنية السائلة ليتم حقنها في أطباق الأوساط المذكورة أعلاه .

2. وفي نفس الوقت انشر بغزارة علـى .E.M.B أو Desoxycholate agar ، وخطط بالطريقة الموضحة في الخطوة السابقة .

3. يوصى باستعمال Bismuth sulfite agar عندما يشتبه بحالة التيفوئيد حيث تنقل إليها كمية كبيرة من المواد الإخراجية وتوزع على سطح الوسط .

4. أضف كمية كبيرة من المواد الإخراجية إلى أنبوب يحتوي على Selenite broth وبعد حضانة ليلة كاملة، انقل عبوة loop لعدة مرات من الأنبوب إلى E.M.B أو MacConkeyt's .

5. ضع في الحاضنة جميع الأطباق على درجة 37م لمدة 18 – 24 ساعة ولمدة 48 ساعة إذا لزم الامر (تحتاج إلى الـ Bismuth sulfite إلى فترة أطول). افحص الأطباق باحثاً عن المستعمرات المشتبه بها . تنتج الـ Sal. & Shig مستعمرات لا لون لها على هذه الأوساط بينما تعطي الـ *S. typhi* مستعمرات سوداء اللون على Bismuth sulfite media ، يجب أخذ الحذر الشديد عند التقاط المستعمرات طالما أن هناك نمواً غير مرئي للبكتيريا التي لم يسمح لها بالنمو موجودٌ حول المستعمرة المراد التقاطها، وينتج عن ذلك عدم الحصول على نمو نقي (Pure growth) في حالة عدم الدقة .

عزل الـ *E. coli* Isolation of :

إنه لمن المسلم به أن هناك أنواعاً مصلية (Serologcal types) من الـ *E. coli* مسؤولة عن الإسهال خاصة عند حديثي الولادة. يجب الحصول على العينة مبكراً عند المرض، وقبل تناول أي من المضادات الحيوية. ويمكن الحصول على المسحات الشرجية كعينة. يمكن استعمال أوساط مثل .E.M.B و MacConkey's agar لعزل من العينة. وبعد فترة الحضانة ليوم كامل تؤخذ الأطباق وتفحص للتأكد من وجود مستعمرات الـ Coliform أو على أقل تعديل ثلاثة مستعمرات من الـEscherichia أوالشبيهة لها، يتم التقاطها ومعاملتها مع مصل مضاد خاص وعلى شريحة زجاجية، تلف وتحرك الشريحة وتفحص لوجود التخثر (Agglutination) .

عزل الضار من المكورات العنقودية .Isolation Of pathogenic staph :

أن تناول المضادات الحيوية بشكل غير منظم يمكن أن ينتج حالة اضطراب في المحتوى الجرثومي للأمعاء، وينتج عن ذلك تطور عدد كبير من الـ (Coagulase + ve staph.) في هذه المنطقة ويؤدي إلى ظهور أعراض مثل الحمى (Fever) والآلام البطنية (Abdominal pain) ، والإسهال (Diarrhae) .

ولعزل الـ .Path. staph يمكن استعمال أوساط اختيارية تحتوي على تركيز عال من ملح كلوريد الصوديوم مثل (Staph. medium - 110) او (Mannitol salt agar) .

عزل الـ (Comma) Isolation of *V. cholera* :

توجد هذه البكتيريا الواوية بأعداد كبيرة في البراز المشابه لماء الأرز (Rice watery stool) ، حيث تتكاثر في حالة الإسهال الشديد في المراحل البدائية للمرض. في بعض الأحيان يمكن مشاهدة هذه البكتيريا في التحضير المباشر ، ولكن زراعة العينة على Taurocholate gelatin agar تعطي نتيجة جيدة، وبعد فترة حضانة تستمر لمدة 24 ساعة تظهر المستعمرات صغيرة وناعمة، بينما لا تنمو على EMB & S.S. agar .

عزل الـ Isolation of *M. tuberculosis* :

يعتبر فحص البراز لكشف وجود الـ .T.B عملاً غير روتيني ولا يعمل إلا عند الطلب، وعندما تكون هذه البكتيريا موجودة في الأمعاء لا بد من وجودها في الجهاز التنفسي وفي البلغم حيث يبتلع ويسبب التهاباً في الأمعاء. ولذلك يجب استعمال أوساط خاصة لعزلها وهي Lowenstein - Jensen medium .

عزل الـ Isolation of *candida albicans* :

يساعد الفحص المجهري للتحضير المباشر في تمييز الطور الضار من غير الضار للـ *C. albicans* .

إن وجود الزوائد أو الخيوط الفطرية (Mycelium) وطور الخميرة (Yeast) يدل على الطور المرضي للـ *C. albicans* ، ولكن عند عمل التحضير المباشر ومشاهدة طور الخميرة فقط، فإن ذلك يدل على أن الفطر في حالة غير ضارة (Saprophyte) . يمكن عزل الـ *C. albicans* بسهولة على .S.D.A محتوٍ على مضادات حيوية حيث يظهر نمواً مثل النمو البكتيري الكريمي (Creamy like bacterial growth) .

عزل الـ Campylobacter

تسبب أنواع من هذا الجنس التهابات معوية مثل *C. jejuni* و *C. coli* ولذلك تجرى الزراعة لعزل هذه الأنواع على الوسط Campy - Blood Agar ، وتحضن تحت ظروف هوائية قليلة (توفر قليل من الأكسجين) و درجة حرارة 42م لمدة 24 – 48 ساعة.

ويمكن البحث عن أنواع أخرى ترتبط بإصابة القناة الهضمية مثل *C. l aridis* و*C. hyointestinalis* و *C. fetus* حيث تنمو تحت درجة 37°م .

يوصي Tenover و Gebhart باستخدام طبقين واحد فيه وسط اختياري وآخر غير اختياري مثل Trypticase - Soy blood agar . يحقن طبق الوسط الاختياري بالبراز وغير الاختياري براشح عينة البراز عبر غشاء المصفي البكتيري المصنوع من أستات السيليولوز Cellulose acetate يحقن الطبق الأول تحت درجة 42°م والثاني 37°م ولمدة 48 ساعة في العادة وقد تمتد الحضانة لمدة 72 ساعة أو أكثر لإعطاء فرصة أكبر للعزل .

عزل الـ *Helicobacter pylori*

ترتبط هذه البكتيريا بالتهاب المعدة وربما قرحتها . تعزل من خلال زراعة عينة نسيجية حية على الوسط **Skirrow agar** أو أي وسط **Campybacter agar** محتوياً على دم ومضاد حيوي مناسب مثل **Cefoperazone** وتحضن تحت 35°م بوجود قليل من الأكسجين ونسبه عالية من الرطوبة ولمدة 7 أيام .

يمكن زراعة العينة على **Chocolate agar** او **MTM** . وكبديل لذلك يمكن وضع عينة النسيج الصغيرة في **Urea broth base** او **Christensen's urea agar slant** بحيث تظهر فاعلية أنزيم **Urease** خلال 30 دقيقة وعلى الأرجح بعد 24 ساعة وهذا مؤشر على وجود هذه البكتيريا .

عزل الـ *Yersinia enterocolitica*

يستخدم وسط خاص لذلك هو **Cefsulodin - irgasan (CIN) novobiocin agar** حيث يتكون من بيتون وخلاصة الخميرة و مانتول و أملاح الصفراء والمضادات الحيوية **Cefsulodin** و **irgasan** و **novobiotin** . وكواشف **N.R.** و **Crys. violet** . تحقن العينه فوق سطح الطبق بالتخطيط وتحقن في درجة حرارة الغرفة لمدة 48 ساعة، تظهر المستعمرات بلون زهري لامع بمركز أحمر . قليل جداً من البكتيريا تنمو على هذا الوسط مثل أنواع من **Aeromonas** المسببة للالتهابات ، وإذا اشتبه بوجودها يفضل حضنها تحت 35°م ويوصى بزراعتها على أوساط أخرى مثل **B.A** يحوي **Ampicillin** .

الجراثيم التي توجد في القناه التناسلية

M. Orgs. Encountered In G.T.

تختلف محتويات المهبل (Vagina) الجرثومــة في الأنثى الطبيعية باختلاف (PH) الإفرازات المهبلية وباختلاف كمية الجلايكوجين (Glycogen) الموجود في الطلائيات (Epithelium) وتركيز الاستروجين ، وفي معظم الحالات توجد الـ Lactobacillus بكثرة مع وجود g-ve enteric bacilli و Bacteroides و Enterococci و Haemophilus sps و Coagulase - ve staph و Strep. و Clostridium وتحمل كثير من النساء β - hemolytic Strep. groupB التي قد تسبب إصابة عند المواليد وتتواجد كذلك الـ Veillonella المشابهة Neisseria .

يعتبر عنق الرحم (Cervix) الطبيعي معقماً أو يحتوي على قليل من البكتيريا ، وذلك بسبب تفاعله القاعدي .

إن البكتيريا الطبيعية المتواجدة (Bacterial normal flora) في الفرج (Vulva) هي خليط من البكتيريا الموجودة على الجلد في هذه المنطقة والبكتيريا النازلة من المهبل وتشمل *Mycob. smegmatis* وبكتيريا موجبة الجرام أخرى .

إن أغلب الجراثيم التي تعزل من حالات الإصابة بشكل متكرر هي :

Coliform , enterococci	Lactobacillus
Ureaplasma urealyticum	*T. vaginalis*
C. albicans	β - hemolytic strep. group B & D.
Non path. mycobacteria	Anaerobic strep.
N. gonorrhoeae	*Treponema pallidum.*

M. tuberculosis	*N. meningitidis*
Chlamydia trachomatis	*H. ducreyi*
Gardenella vaginalis	**Mycoplasma Species**
	Viruses

جمع العينات Specimens Collection :

أفضل مكان لجمع العينة من المرأة لغايات الزراعة هو عنق الرحم حيث يزال المخاط الموجود في المهبل وعنق الرحم بوساطة Cotton swab ماسحة قطنية معقمة ثم تستخدم ماسحة جديدة بإدخالها إلى قناة عنق الرحم الداخلية وتحرك من جانب إلى آخر ويسمح لها بالمكوث ثلاثين ثانية ثم تخرج للزراعة ، ولتجنب ملامسة الماسحة القطنية جدار المهبل الملوث بالساكن الطبيعي يمكن استخدام منظار مهبلي معقم Bivalve Speculum مرطب بماء دافئ ومن خلاله تدخل الماسحة القطنية لتصل إلى عنق الرحم . يمكن جمع عينات شرجية وذلك بإدخال الماسحة القطنية المعقمة إلى داخل القناة الشرجية anal canal وتحرك من جانب إلى آخر ، وإذا علق على الماسحة القطنية مواد إخراجية فإنها تهمل لعدم صلاحيتها. وتجمع عينة جديدة بماسحة جديدة . وفي حالة عدم إمكانية الحصول على عينة من عنق الرحم يمكن استبدال ذلك بعينات من المهبل أو من الإحليل للزراعة .

وفي الرجال تجمع عينة من إفرازات الإحليل Urethral discharge إذا كانت متوفرة بكمية تمكنها من السيلان خارج الفتحة البولية التناسلية حيث يفضل جمعها في الصباح وتسمى بقطرات الصباح الباكر early morning drops التي تتميز بتقيحها .

وتجمع مسحات من الإحليل Urethral Swab بماسحة قطنية Cotton swab معقمة خاصة لهذه المنطقة تسمى Urogenital swab وذلك بإدخالها لعدة سنتمترات في داخل الإحليل وتلف الماسحة وهي داخل الإحليل وتترك لبعض الوقت .

وتجمع مسحات شرجية من اللوطيين Homosexulas بواسطة ماسحة قطنية معقمة . وكذلك يمكن جمع إفرازات البروستات Prostatic discharge ويتم ذلك بعمل مساج شرجي anal massage حيث تسيل الإفرازات من الإحليل وتجمع في حاويات معقمة .

وقد جمعت عينات بول من الذكور المصابين وركزت بالطرد المركزي وعزلت الكلاميديا منها بنجاح .

الفحص المجهري المباشر .Direct Microscopic Exam والزراعة Culture

يمكن الاحتفاظ بالعينة لعزل مسببة السيلان لمدة 12 ساعة في درجة حرارة الغرفة دون حدوث أي تغير على العينة أو إذا كان جمع العينة بعيداً عن مكان زراعتها يفضل استخدام أوساط ناقلة Transport media وأفضلها .Modified Stuart's Transp أو Amies charcoal transp. Media حيث يحتفظ بها في درجة حرارة الغرفة لحين الزراعة وهذان الوسطان جيدان لنقل العينات المشتبه بوجود Gonococcus فيها . أما إذا اشتبه بوجود Mycoplasma أو الكلاميديا فيستخدم وسط Sucrose buffer مضافاً إليه مضادات حيوية .

الخطوات Procedures

أ – الفحص المجهري المباشر :

1. عمل لطخات من العينة على شرائح زجاجية وذلك بدحرجة Rolling الماسحة القطنية على الشريحة أو بوضع قطرة من العينة المجهرية في حاوية ، وصبغها بطريقة جرام .

إن مشاهدة خلايا كروية مزدوجة الترتيب داخـل الخلايا Intracellular سـالبة التفاعل مع الصبغـة تشـير إلى وجـود الـ Neisseria بنوعيها *N. gonorrheae* او *N. meningitidis* (عزلت الأخيرة من إصابات تناسلية) .

ومشاهدة خلايا صغيرة جـداً عصويـة أو عصويـة مكـورة Coccobacilli متغـيرة التفـاعل مـع الصبغـة مؤشـر علـى وجـود خلايـا Clue cells الممثلـة للبكتيريـا *Gardenella vaginalis* المسببه لالتهـاب المهبـل البكتـيري Bacterial (B V) Vaginosis .

2. عمل تحضيرات رطبة مباشرة مـع N.S. (محلول ملحي طبيعي) يفيـد في الكشـف عـن وجود *T. vaginalis* ومـع 10٪ KOH يفيـد في الكشـف عـن الفطريـات والخمـائر Yeasts .

3. تحضيرات لاستخدام تقنية الحقل المظلم لمشاهدة Treponema مسببة مرض الزهري

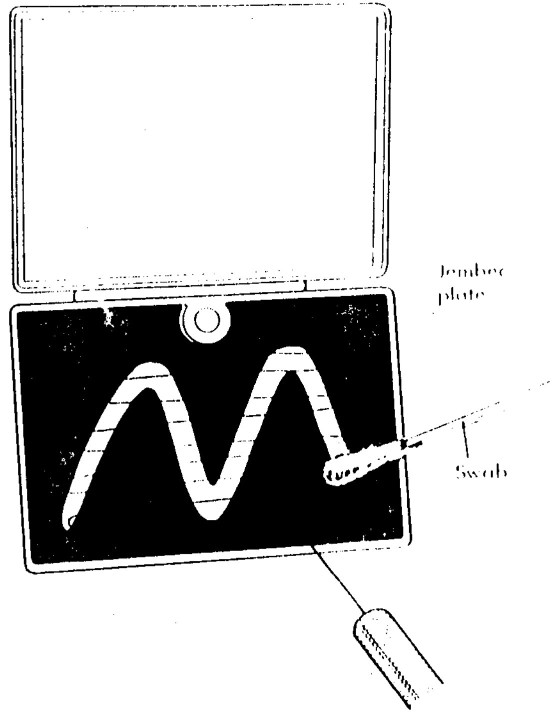
ب- الزراعة :

1. تحقن العينات في وسط غني هو Thayer Martin Chocolate agar وتنشر بطريقة التخطيط التقليدية . تحضن الأطباق بوجود 3٪ CO_2 تحت درجة 35-36م لمدة 24-48 ساعة .

2. حقن أطباق من الأوساط Modified Thayer Martin agar هو أكثر الإجـراءات شيوعاً في التفاعل مع هذه العينات ، وقد أدخل الوسط New york city (NYC) agar الى المختبرات فأضـاف ميزة في تنميـة Mycoplasma بالإضافـة إلى مكـورات السيلان gonococcus .

3. أدخلت حديثاً طريقة تخطيط طبق جيمبك Cross - Streaking Jembec plate والطبق مستطيل الشكل يحوي وسطاً غنياً مضافاً إليه أقراص من بايكربونات الصوديـوم التي تزود الجو بغاز ثاني أكسيد الكربون .

تمرر الماسحة القطنية الحاملة للعينة على سطح الوسط مشكلة الحرف w مع لف للماسحة أثناء تمريرها فوق سطح الوسط لمحاولة انتقال أكبر عدد ممكن من الخلايا البكتيرية إلى سطح الوسط ، ثم بحلقة السلك **Wiro loop** المعقمة تجري عملية التخطيط العرضية وكما موضح في الشكل التالي



الجراثيم الموجودة في التهاب الجهاز التنفسي

M.Orgs. Encountered In R.T.

هناك عدة آليات غير متخصصة تحمي الجهاز التنفسي من الإصابة بالجراثيم ، تبدأ بشعر الأنفين والتفاف الممرات والمخاط المبطن للأنف ، وإفراز IgA والأنزيم الحال للجراثيم Lysozyme في الإفرازات التنفسية ، والأهداب والمخاط المبطنين للقصبة الهوائية ثم الأفعال الانعكاسية التي تشمل السعال والعطس والبلع . كل هذه الآليات تمنع الأجسام الغريبة من الدخول إلى الشعب الرئوية ثم إلى الرئتين والتي تبقى معقمة في الأشخاص الطبيعين . في حالة وصول جراثيم إلى الحويصلات الرئوية فإنها تبتلع من قبل البلعم الكبير Macrophage وتحمل إلى السائل اللمفاوي . بالإضافة إلى ذلك فإن وجود الساكن الطبيعي في البلعوم الأنفي والبلعوم الفموي يساعد على منع التصاق الجراثيم المرضية في الجهاز العلوي من الجهاز التنفسي .

تتواجد الجراثيم بشكب طبيعي في البلعوم الأنفي والفموي في الأشخاص الطبيعيين، وقد تسبب هذه الجراثيم أمراضاً انتهازية تحت ظروف خاصة ولأسباب غير معروفة وربما تعلل إما لإصابة فيروسية سابقة ، أو فقدان بعض المناعة أو دمار النسيج الطلائي (يحدث ذلك عند المدخنين) .

إن عزل أي نوع من مكان معقم طبيعياً وبطرق معقمة يجعل على الفني واجب اعطاء تقرير بذلك بعد إتمام جميع إجراءات التشخيص المخبري .

والجراثيم التالية تشكل الساكن الطبيعي للجزء العلوي من الجهاز التنفسي . ساكن طبيعي نادراً ما يسبب أمراضاً ويشمل

Staphylococci	Nonhemolytic strep.
Corynebacterium spp	Micrococci
Neisseria spp. other than	Coagulase negative staph
N. gonorrhene and N. meningitidis	Spirochetes
Veillonella spp.	Lactobacilli spp

ساكن طبيعي من الممكن أن يسبب أمراضاً ويشمل

Viridans streptococci	Acinetobacter spp
Strep. pnenmonia	Group A β - hemolytic strep
C. diphtheria	*Staph . aureus*
Cryptococcus neoformans	*N. meningitidis*
H. influenzae	Mycoplasma spp
Branhamella(Moraxella) Catarrhalis	*H. parainfluenzae*
Herpes simplex virus	*C. albicans*
Mycobacterium spp	Enterobateriaceae
Filamentous fungi	Pseudomonas spp
Eikenella corrodens	*Klebsiella ozaenae*
Peptostreptococcus spp.	Bacteroides spp.
	Actinomyces spp.

هناك بعض الجراثيم التي تعتبر مسبباً بشكل حتمي ووجودها بأي عدد في المسالك التنفسية يعتبر أمراً مهماً على الصعيد التشخيصي لامتلاكها قدرة عالية على إحداث الإصابة . وهذه الجراثيم هي :

Neisseria gonorrheae — *Corynebactrium diphtheria*

Mycoplasma pneumonia — *M. tuberculosis*

Chlamydia pneumonia — *Chlamydia trachomatis*

Legionella spp — *Bordetella pertussis*

Nocardia spp — *pneumocystic carinii*

Coccidioides immitis — *Histoplasma capsulatum*

Blastomyces dermatitidis — *Cryptococcus neoformans*

وهناك مجموعة ممرضة نادراً ما تسبب أمراضاً وهي :

Bacillus anthracis — *Francisella tularensis*

Pseud. pseudomallei — *Yersinia pestis*

Chlamydia psittaci — *Coxiella burnetti*

Salmonella spp — Brucella spp

Kl. rhinoscleromatis — *Pasteurella multocida*

Parasites — Varicella - zoster virus

جمع ونقل عينات الجزء العلوي من الجهاز التنفسي

Collection and Transport of U.R.T. Specimens

يمكن جمع العينة من الحلق أو الحنجرة المصابة بالماسحة Swab سواء كانت من القطن أو الداكرون dacron وهو نوع من الـ polyester او Ca - alginate وجميع هذه الماسحات سامة للكلاميديا . ويفضل ان تبقى الماسحة رطبة ولمدة لاتزيد عن 4 ساعات من

جمع العينة حتى تبقى الجراثيم المحمولة عليها حية باستثناء .group A strep حيث تقاوم الجفاف وتبقى حية لمدة 48–72 ساعة.ولمثل هذه العينة يمكن لف وتغطية العينة بورق الجلاسين الشفاف الذي يحمي من الجفاف ونقلها إلى مكان آخر للزراعة . يستخدم الوسط Modified Stuart's Transport لنقل العينات وخاصة الحاوية للفيروسات ويمكن تبريد العينة بوضعها في الثلاجة ولكن ليس تجميدها . عند عزل مسببة الدفتيريا يفضل جمع عينة من الحنجرة والبلعوم الأنفي .

من الأساليب الأخرى لجمع العينات غير استخدام الماسحات ويمكن استخدام اسلوب الشفط من البلعوم الأنفي بكرة مطاطية ناعمة خاصة لعزل مسببة السعال الديكي ، ولعزل هذه البكتيريا يجب زراعة العينة مباشرة وبجانب سرير المريض على الأوساط المناسبة . وإذا كان ذلك غير ممكن فيجب وضع العينة في وسط ناقل لمدة لاتزيد عن ساعتين .

الفحص المجهري لعينات الجزء العلوي من الجهاز التنفسي :

1. عمل لطخات من العينة على شرائح وصبغها بطريقة جرام سوف لايؤد بنتائج يمكن الاعتماد عليها في التشخيص . يمكن مشاهدة خلايا الخميرة واللولبيات المسببة لمرض **Vincent's angina** . وإن مشاهدة عصيات الدفتيريا لا يعتمد عليه باستخدام هذه الطريقة .
2. عمل تحضيرات رطبة باستخدام 10٪ **KOH** يفيد في مشاهدة الخميرة وتشعبات الفطريات .
3. صبغ العينة من المريض المشتبه بإصابته بالسعال الديكي بوساطة **Fluorescent antibody stain** أعطى تشخيصاً مبكراً للحالة . وشخصت هذه التقنية الإصابة بـ **growp A β - hemolytic strep.** والإصابة بالفيروسات .

زراعة عينات الجزء العلوي من الجهاز التنفسي :

1. لقد جرت العادة على استخدام 5٪ خلايا حمراء الماعز مع B . A. Base ولكن وجد بأن الخلايا الحمراء للحيوانات الأخرى تزود بمتطلبات النمو لأكثر أنواع البكتيريا تسبباً لالتهاب الحلق واللوزتين وهي β - hemolytic strep. أو *Strep. pyogen* و *H. hemolyticus* و *H. parahemolyticus* .

وينصح الآن بحقن الوسط الاختياري Strep. Selective Agar حيث يمنع نمو أغلب أنواع الساكن الطبيعي والـ β - hemolytic strep. باستثناء المجموعة A و B . ويمكن إضافة ورق ترشيح تحوي 04. وحدة من الـ Bacitracin على منطقة الحقن فوق الوسط وبعد ليلة من الحضانة تظهر حساسية جميع أنواع المجموعة A ونسبة قليلة من المجموعة B من المكورات السبحية Streptococci بالإضافة إلى ذلك يمكن إجراء مجموعة فحوصات سريعة لا تعتمد على الزراعة مثل فحص التخثر باللاتكس Latex agglutination وفحص البحث المناعي الإنزيمي Enzyme Immunoassay وتقنية التحقق الجيني Gene probe technique حيث إن بعض هذه التقنيات تستغرق ساعات أو حتى دقائق .

2. تحقن الأوساط (سواء في أطباق أو في أنابيب) الخاصة بالدفتيريا وهي Loeffler's agar و Cystine - tellurite agar

3. يحقن الوسط Borodet - Gengou agar مضافاً إليه بعض المضادات الحيوية لعزل *B. pertussis* والمحسن من هذا الوسط إستخدم لعزل أنواع Legionella .

4. يحقن الوسط MTM او Martin - Lewis Agar بالعينة بوجود 5–10٪ CO_2 ولمدة 48 ساعة لعزل الـ Neisseria والأوساط المذكورة أعلاه تزود بمتطلبات النمو لمعظم أنواع البكتيريا المتوقع تسببها لإلتهاب الحلق واللوزتين .

5. يحقن الوسط EMB او .MacC لعزل الـ g - ve بكتيريا .

جمع ونقل عينات الجزء السفلي من الجهاز التنفسي

Collection and Transport of L.R.T. specimens .

1. ستتلوث عينة التنفسي السفلي بالساكن الطبيعي للجزء العلوي خاصة اللعاب إلا إذا استخدمت في الجمع تقنية تمنع ذلك ، ولذلك فإن عينة البلغم Spulum أقل العينات التي ترد إلى مختبر علم الأحياء الدقيقة .

يحتاج جمع عينة البلغم لغايات الزراعة الى حرص وثقافة العاملين في المختبر وتفهم وتعاون المريض ، ويشمل ذلك على إعطاء المريض تعليمات للحصول على العينة من أعماق الرئة من خلال سعال عميق ، وعندها يجب وضع العينة في حاوية معقمة مع المحاولة بتقليل التلوث باللعاب وإذا لم يتمكن المريض من إعطاء عينة البلغم فيخضع لمعالجة تنفسية استحثاثية لأخراج البلغم وذلك بجعله يستنشق هواء يحوي 15٪ Nacl و 10٪ جلسرين لمدة 10 دقائق أو حتى يبدأ بالسعال وإخراج البلغم الذي سيكون مائي المظهرهشابة لمظهر اللعاب .

2. عينة أخرى يمكن جمعها لعزل عصيات السل خاصة من الأطفال الذين لا يستطيعون إعطاء البلغم وهي الشفط المعدي gastric aspirate حيث يدخل أنبوب عبر الأنف حتى المعدة وتسحب محتويات المعدة ويجري ذلك في الصباح الباكر وقبيل الاستيقاظ . وتكون هذه العينة مليئة بعصيات السل التي يكون المريض قد ابتلعها خلال الليل وهي خارجة من جهازه التنفسي ، ويساعد على ذلك مقاومتها لحامضية المعدة .

3. الشفط القصبي Tracheostomy aspirate وهذه العينة تجمع من الأشخاص الذين لا يستطيعون إعطاء عينة البلغم بشكلها الطبيعي بسبب وجود فتحة القصبة الهوائية تسمى Tracheostomy فيتم شفط إفرازات الجهاز التنفسي السفلية من خلال تلك الفتحة وتعامل هذه العينة معاملة البلغم .

4. غسيل الحويصلات الشعبية Bronchoalveolar lavage ويتم جمع العينة هذه بالمنظار وبتقنية خاصة .

- الفحص المجهري المباشر لعينات الجهاز التنفسي السفلي :

تخضع العينات إلى تركيز بوساطة الطرد المركزي العادي أو الخلوي cytospin ويسال المخاط بمحلول 5٪ KOH إن وجد .

1. بوساطة التحضير الرطب يمكن مشاهدة بعض الطفيليات وباجراءات خاصة يمكن مشاهدة pneumocystis

2. تشاهد التشعبات الفطرية بالتحضير المباشرة مع KOH٪10 واستخدام تقنية ال Phase microscopy بالأشعة فوق البنفسجية باستخدام صبغة PAS المستخدمة في صبغ الأنسجة .

3. عمل فحص Quellung Test بعد تحضير لطخة وصبغها بطريقة جرام وظهور بكتيريا في الشريحة , وهذا الفحص يشخص وجود *Strep. pneumonia* أو من نفس التحضير يشاهد وجود خلايا الخميرة .

4. عمل لطخة على شريحة وصبغها بطريقة Z.N للكشف عن وجود T.B. ويمكن استخدام صبغة auramine - rhodamine للكشف عن وجود الـ T.B. كذلك تستخدم تقنية صبغ الأجسام المضادة بالفلورسيين Direct Fluorescent Antibody Staining (DFA) لتشخيص أنواع الـ Legionella

زراعة عينات الجهاز التنفسي السفلي :-

1. تعزل معظم العوامل المسببة لالتهاب الجهاز التنفسي السفلي باستخدام الأوساط B.A وMacC. و .Ch.A. بسبب تلوث بعض العينات المذكورة سابقاً بالساكن الطبيعي للفم فإن تلك العينات لاتزرع على أوساط غنية سائلة ولاتحضن لاهوائياً

2. تخضع العينات الملوثة والمراد عزل .T.B منها إلى التخلص من التلوث والتركيز قبل أن تحقن في الأوساط الزراعية وتحقن في أنابيب تحوي L.J.media

3. لعزل الفطريات تحقن العينات في Brain Heart Infusion Agar او Sabouraud's Heart Infusion Agar

4. لعزل *H. influenzae* وأنواع أخرى تحقن العينة على Chocolate agar مع إضافة أقراص Bacitracin تحوي 10 وحدات فوق منطقة الحقن الأولية على سطح الطبق.

الجراثيم الموجودة في سائل النخاع الشوكي
M. orgs. Encountered in CSF

يعتبر سائل النخاع الشوكي Cerebrospinal fluid (CSF) سائلاً مهماً من خلال وظائفه للدماغ وأغشيته والنخاع الشوكي . يتغير سائل النخاع الشوكي بكامل حجمه مرة كل 3–4 ساعات . ويطلق مصطلح التهاب السحايا Meningitis على التهاب الفراغ تحت العنكبوتي أو أي مكان من الخلايا الرقيقة .

في حالة التهاب السحايا البكتيري يكون الـ CSF متقيحاً Purulent مع وجود أعداد زائدة من الخلايا البيضاء عديدة تشكل النواة .

Polymorphonuclear leucocytes يصل إلى 1000 خلية / ملم^3 من السائل . وهذا يقود إلى نقصان في نسبة الجلوكوز في السائل ، أما إذا كان الالتهاب غير بكتيري فإن السائل لايكون متقيحاً ولكن تبقى نسبة الجلوكوز أقل من معدلها الطبيعي في السائل مقارنة بتركيز الجلوكوز في المصل .

ويحصل كذلك ارتفاع في نسبة البروتين في السائل في حالة الالتهاب البكتيري للسحايا .

تحدث العدوى بتكاثر البكتيريا في البلعوم الأنفي والفموي قبل أن تنتقل عبر الأوعية اللمفاوية أو الدموية لكي تصل في النهاية إلى أغشية السحايا حيث تتكاثر بشكل أكبر في موقع خال من المضادات الحيوية والخلايا الابتلاعية ، وكلما كانت البكتيريا محاطة بمحفظة مضادة للابتلاع كلما كانت الإصابة أكثر حدة . يمكن للفيروسات أن تنتقل عبر مجرى الدم أو من خلال العصب حتى تصل إلى الدماغ ، بالإضافة إلى ذلك فإن التهاب الجيوب الأنفية قد يقود إلى التهاب السحايا . تتسبب حالة التهاب السحايا من الجراثيم التالية :

Flavobacterium meningosepticum (nurses) *N. meningitidis*

Pseudomonas spp **Protens spp**

L. muocytogones *Staph. aureus*

H. influenzae type b (infants) **Group B strep.**

Strep. pneumonia **Leptospira spp**

E. histolytica *Strogyloides stercoralis*

E. coli **Viruses**

وقد عزلت الجراثيم التالية من حالات التهاب سحايا مزمنة وهي :

M. tuberculosis *C. neofromans*

C. immitis *H. capsulatum*

B. dermatitidis **Candida spp**

T. pallidum **Brucella spp**

Salmonella spp *T. gondii*

T. spiralis *Paragonimus westermani*

جمع العينات وحفظها :

تجمع العينة بوساطة طبيب وبإجراءات جراحية خاصة في حاوية معقمة بحيث يكون حجم العينة 5 – 10 سم^3 ، ولا يجوز تبريدها ، ويمكن حفظها في الحاضنة أو درجة حرارة الغرفة لحين زراعتها وباستثناء الإصابة الفيروسية فيمكن وضعها في الثلاجة ولمدة 24 ساعة أو يمكن تجميدها تحت –70°م ولمدة طويلة .

ترسل العينة لإجراء فحوصات جرثومية وخلوية وكيميائية ومصلية .

الفحص المباشر :

تركز العينة وذلك بترسيبها مستخدمين جهاز الطرد المركزي وبسرعة 2500 لفة / الدقيقة الواحدة ولمدة 15 دقيقة حال استقبال العينة أو بعد الحفظ ، بحيث يؤخذ الطافي بوساطة ماصة معقمة وتنقل إلى أنبوب آخر معقم وذلك لإجراء الفحوصات الكيميائية والمصلية . بينمام يؤخذ الراسب للدراسات الجرثومية .

1. تحضير لطخات دون فرد على الشرائح وصبغها بطريقة جرام .
2. عمل تحضير رطب بمحلول N.S لمشاهدة *E. histolytica*
3. عمل لطخة على شريحة وصبغها بالحبر الهندي India Ink لمشاهدة *C. neoformans*
4. إجراء فحص Quallung Test للتحقق من وجود *Strep. pneumonia*
5. يمكن الكشف عن الأجسام المضادة ضد الزهري بإجراء فحص VDRL .
6. يمكن الكشف عن الأنتيجينات في CSF باستخدام تقنية Counter Current CIE Immuno Electrophoresis ونحتاج إلى أجسام مضادة متخصصة لكل أنتجين .

الزراعة :

1. تستخدم الطريقة الروتينية لزراعة سائل النخاع الشوكي حيث يؤخذ الراسب ويحقن في أنبوب Thioglycholate broth وعلى B.A و Chocolate agar .
2. توضع الأطباق في الحاضنة تحت درجة 37م بوجود 5-10 ٪ CO_2 ولمدة 72 ساعة على الأقل ويمكن استبدال ذلك باستخدام Candle Jar. وتحضن الأنابيب في أجواء هوائية لمدة 5 أيام كحد أدنى ، يجب أن يكون غطاء الأنبوب غير محكم ليحدث تبادل الهواء .
3. إذا شوهد في الشرائح g - ve عصوية يجب زراعة العينة على MacC. وإذا شوهدت خلايا شبيه بالبكتيريا اللاهوائية فيجب حضن الطبق B. A تحت ظروف لاهوائية .
4. إذا اشتبة بإلتهاب سحايا مزمن تزرع العينة لعزل T.B والفطريات على L.J medium و Brain heart infusion agar (مضافاً إليها مضادات حيوية) على الترتيب . تحضن أطباق عزل الفطريات تحت 30°م لمدة 4 أسابيع .

الجراثيم الموجودة في الدم

M. orgs. Encounterd In The Blood

يعتبر وجود الجراثيم في الدورة الدموية سواء بشكل مؤقت أم دائم تهديداً لكل عضو في الجسم .

إن غزو الجراثيم لمجرى الدم بالإضافة إلى إنتشار الإصابة والتأثير على وظيفة الأجسام الغريبة المزروعة في الجسم (مثل صمامات القلب والمفاصل الصناعية) ربما يؤدي إلى تبعيات خطيرة وسريعة وتشمل الصدمة وفشل أعضاء عديدة وانتشار الجلطات داخل الأوعية الدموية ثم الموت .

تؤثر الـ g - ve بكتيريا بسبب ما يحويه جدارها الخلوي من مواد (السم الداخلي Endotoxin) تأثيراً قوياً على عدد من الوظائف الحيوية . تتحرر هذه المواد (LPS) Lipopolysaccharide سواء من خلال مراحل نمو البكتيريا أو بعد تدمير البكتيريا من قبل قوى الدفاع الموجودة في جسم العائل . وتؤدي هذه المواد LPS إلى عدة تأثيرات منها هبوط في نسبة الخلايا البيضاء المتحببة في الدورة الدموية وحدوث الحمى وتنشيط المكمل وتنشيط بعض عوامل تخثر الدم .

وتؤثر الـ g + ve بكتيريا بسبب ماتنتجة من سموم خارجية Exotoxin على إغلاق الأوعية الدموية بسبب الجلطات التي تحدث داخل الأوعية الدموية وهذا يقود إلى دمار لأنسجة جسم المريض .

تعتبر عينة الدم أهم عينة يمكن تقديمها لمختبر الأحياء الدقيقة للفحص على الإطلاق . ومن المهم معرفة الالتهابات التي تؤدي إلى زراعة الدم الإيجابية (Positive

blood culture) . ومن خلال تطور عدة أمراض يمكن أن تمر الجراثيم مروراً في الدم وتسمى (Transient bacteremia) ، ويشتمل ذلك على التهاب الرئة (Pneumococcal pneumonia) ، والتهاب السحايا البكتيري (Bacterial meningitis) والتهاب المسالك البولية (Urinary tract infection) و حمى التيفوئيد (Typhoid fever) والإصابات العامة بالسالمونيلا (Generalized salmonella infections) ، والتهاب الجروح (Wound infection) ، بسبب β- hemolytic strep. أو بسبب (*Staph. aureus*) أو (Bacteroides) ، والتهاب المرارة (Infection of gall bladder) ، والتهاب القناة الصفراوية (Infection of biliary tract) ، والتهاب العظام (Osteomyelitis) ، والتهاب الغشاء المبطن للبطن (Peritonitis) كلها تعطي نتيجة إيجابية لزراعة الدم .

وعلى ذلك يمكن عزو إصابة الدم إلى الأسباب التالية وبنسبة كل سبب

25 ٪ من القناة المعدية المعوية .

20 ٪ من الجهاز التنفسي .

10 ٪ من التقيحات

5 ٪ من التهاب الجروح الناتجة عن العمليات الجراحية .

5 ٪ من القناة الصفراوية .

10 ٪ من أسباب متفرقة .

25 ٪ من مواقع غير مؤكدة .

والجراثيم التالية غالباً ما تتواجد في الدم عند زراعته وهي :

α and β - hemolytic strep.
Coagulase + ve and - ve staph.
Pneumococci
Enterococci
Corynebacteria sps.
Actinomycces sps.
Aeromonas sps.
V. fetus and related vibrios
Lactobacilli sps.
Bacteroides sps.
N. meningitidis
Leptospira sps.
Candida sps.
Cryptococcus
B. dermatitidis
Nocardia spp.
H. Capsulatum
H. influenzae
L. monocytogens
Cl.perfrenges
Proteus sps.
E. coli
Klebsiella sps.
Acinetobacters sps.
Enterobacters sps.
Moraxella sps.
Brucella sps.
Salmonella sps.
Pseudomonas sps.

دور موانع التجلط في زراعة الدم

تستعمل بعض المختبرات موانع للتجلط مثل SPS = (Na- polyanethol sulfonate) والذي يدعى (Lioquoid) . إن استعمال هذا المانع بتركيز 03.٪ يكون مفيداً في منع نشاط عدة أنواع من المضادات الحيوية . وهذا المانع ثابت على درجة حرارة

الأوتوكليف (Autoclave) ، لكن لا ينصح استعمال هذا المانع في طريقة صب الأطباق للزراعة (Agar pour plate cultures) لأنه يمنع نمو بعض أنواع البكتيريا مثل Neisseria, Strep, *H. influenza*. ويمكن استعمال مانع آخر هو Na- citrate بتركيز 1.5 – 1٪ ، ولكن تشعر بعض المختبرات بأنه قاتل لأنواع من g + cocci .

خطوات عمل زراعة الدم

Blood Culture Procedure

عند سحب الدم للزراعة يجب أخذ الحذر في تحضير مكان سحب الدم حيث تستخدم قطنة مشبعة بـ 70 – 80 ٪ كحول ويمسح مكان السحب جيداً ثم تستخدم قطنة أخرى مشبعة بمحلول اليود بتركيز 2٪ .

وتستخدم عادة المطاطة الشادة Tourniquet حول الذراع لتساعد على إظهار الوريد وتسحب كمية من الدم لاتقل عن 1–5سم^3 من الأطفال لأن زراعة حجم دم أقل من 1سم^3 لا يعطي نتيجة إيجابية للزراعة ، ومن البالغين تجمع كمية دم تتراوح من 10 – 12 سم^3 بوساطة إبرة وحقنة معقمتين .

وقد بدت التوجهات الحديثة إلى جمع 4 عينات دم للزراعة والتشخيص البدائي للحمى غير معروفة الأصل ، عينتين في اليوم الأول وعينتين بعد يومين من السحب الأول واثبتت هذه الطريقة نجاح عزل جميع مسببات تعفن الدم .

وفي حالة ما يكون المريض في وضع يحتاج إلى علاج سريع فإن اختصار الوقت مهم له وكحل وسط فقد اقترح على جمع 40 سم^3 من الدم في وقت واحد كل 20 سم^3 منها تجمع بوساطة إبرة وحقنة منفصلتين ومن مكان منفصل عن الآخر وقبل تناول المريض للمضادات الحيوية .

وأثبت العالم Weinstein وزملاؤه أن 99.3 ٪ من 500 حالة تعفن دم Septicemia استخدم لهم 30سم^3 من الدم للزراعة . وفي دراسة أخرى ثبت بأن 98٪ من المصابين بالتهاب شغاف القلب endocarditis وغير المتعاطين للمضادات الحيوية تم تشخيصهم من خلال زراعة عينتين من الدم . وفي دراسة أخرى زرعت 3 عينات كل واحدة 10 – 20 سم^3 لتشخيص التهاب شغاف القلب . بعد ان يجمع الدم إما أن ينقل بسرعة إلى أنبوب مناسب معقم أو إلى قنينة محكمة الإغلاق بغطاء فلين تحوي 3.4سم^3 من 35. ٪ Liquoid في محلول ملحي Saline معقم ، ثم تمزج بعد ذلك جيداً وترسل للمختبر ، أو أن تفرغ عينة الدم مباشرة في الوسط الزراعي السائل المحتوي على مانع التجلط المناسب .

يمكن الاحتفاظ بعينة الدم في الثلاجة لمدة لا تزيد عن 1 – 2 ساعة إذا لزم الأمر . يؤخذ حجم 10سم^3 من الدم ويضاف إلى قنينة تحوي 100 سم^3 من (Thioglycolate medium) والباقي يضاف إلى قنينة تحوي 100 سم^3 من Trypticase soy broth. إن وجود عدد قليل من البكتيريا في مجرى الدم يؤدي إلى ظهور نفس أعراض وجود عدد كبير منها فيه .

عادة تستعمل الـ (Thioglycolate medium) ، لتنمية الجراثيم اللاهوائية من الدم خاصة إذا سخنت القنينة ثم بردت قبل إضافة الدم ووضعت في الحاضنة تحت ظروف لاهوائية داخل الجرة اللاهوائية الـ (Anaerobic Jar)، بحيث يكون الغطاء غير محكم الإغلاق .

إذا كان المريض قد تناول البنسلين (Penicillin) للعلاج في وقت أخذ العينة للزراعة فان الدم سيحتوي على تركيز عال لهذا المضاد الحيوي والذي بدوره سيمنع نمو البكتيريا المشتبه بها في العينة ، ولعزل هذه البكتيريا يفضل إضافة أنزيم (Penicillinase) إلى زراعة الدم، وذلك لوقف فعل البنسلين .

ولقد قرر بأن إضافة الـ (Liquoid) الى (Blood broth culture) سيعادل نشاط المضادات الحيوية مثل :

Streptomycin و Kanamycin و Gentamycin و Polymyxin .

الحضانة وفحص النمو Incubation & exam. of cultures

توضع زراعة الدم في الحاضنة تحت الظروف الهوائية ، وتحت درجة 35 – 37 م ، وتفحص يومياً خلال الأسبوع الأول للتأكد من وجود أو عدم وجود النمو وعدة مرات في الأسبوع الثاني . وعندما تكون نتيجة الزراعة إيجابية ، فان النمو سيظهر بإحدى المظاهر التي تختص بنوع البكتيريا النامية خاصة في الأوساط السائلة .

عند نمو الـ g-ve rods تكون الطبقة فوق الخلايا الحمراء R.B.C معكرة بشكل متناسق ، ويمكن وجود فقاعات من الهواء بسبب تخمير الجلوكوز . وعند وجود الـ Pneumococci أو Meningococci يشبه الذي حصل في حالة g-ve rods ، ولكن وضوح العكورة أقل ، وعادة يظهر اللون الأخضر الفاتح في الوسط .

تنمو الـ Streptococci فقط في Thioglycolate medium ، وتظهر على شكل كرة قطنية Cotton ball على سطح راسب الخلايا الحمراء ، بينما تبقى الطبقة العلوية من الوسط السائل صافية .

وإذا حدث النمو للـ Beta hemolytic Strep.، أو أي بكتيريا أخرى محللة للدم ، فإن تحلل الدم يظهر بوضوح مع وجود العكورة . بينما تنمو الـ Pathogenic staph. على سطح الوسط منتجة طبقة متجلطة مثل الجيلي خارج سطح الوسط السائل ، وذلك بسبب إفرازها لأنزيم Coagulase ويمكن تشخيصها بفحص Aurease السريع . وإذا تلوث الوساط أو الزراعة بالـ Bacillus أو الـ Saprophytic fungi فإنه سيحصل تحلل للدم في الأوساط السائلة ، وسيتكون تجمعات سميكة على السطح .

تنمو الـ Clostridium في الـ Thioglycolate ، منتجة تحللاً للـدم مـع رائحـة غير طيبة وغاز تحت الضغط .

أما نمو الـ *H. influenza* ، فإنه لا يحدث أي تغـير في الوسـط ولا يمكـن التحقـق من هذا النمو الإبزراعته مرة أخرى على أوساط صلبة مثل Chocolate agar .

في حالة زراعة الدم السلبية Negative blood culture تبقى الأوسـاط صافيـة إلا أنه من المحتمل أن يحدث تطورٌ للعكورة مع استـمرارية الحضانـة ، ويحـدث ذلـك أحيانـاً عند هز وتحريك القنينة وعند تحضير لطخة فوق شريحة وصبغها فلن تظهر أية بكتيريا .

بعـد اسـتمرارية فـترة الحضانـة لمـدة عـن 10 أيـام تتطـور العكـورة في الـــ Thioglycolate بسبب الـ Fibrin ، ويحدث ذلك عادة فوق طبقة خلايا الـدم الحمـراء ويخيل للناظر أن ذلك عبارة عن نمو بكتيري .

وعلى أية حال فإن وجود العكورة ليس دليلاًعلـى وجـود النمـو ، ولذلـك يجـب عمل لطخة على شريحة وصبغها بطريقة جرام وفحصها للتأكد من وجود جراثيم .

عند ظهور النمو علـى أي وسـط يجـب نقـل الــ Culture إلى طبـق مـن Blood agar وأنبوب من Tioglycolate broth وعمل فحص شريحة مصبوغـة . وإذا وجـدت g - ve rods فيجب نقـل الــ Culture علـى EMB أو MacConkey's أيضـاً . مـن المحتمل أن تكون الـg - ve rods هي *H. influenza* ، والتي في مثل هذه الحالة لا تنمـو على Blood agar أو EMB بشـكل منتظـم ، ولذلـك لا بـد مـن زراعتهـا علـى (Chocolate agar) . ومـن المحتمـل وجـود أنـواع من Bacteroides والـتي تتطلـب ظروفـاً لا هوائيـة لتنميتهـا ، ولذلـك فمـن الضـروري استـعمال أنـواع كثـيرة مختلفـة مـن الأوساط لإعادة تنمية النمو الإيجابي الأول . إن الفتح المتكرر لقناني الزراعة قد يـؤدي إلى تلوث محتوياتها. والطريقة التالية مستخدمة في زراعة الدم وهي :

Broth culture procedure

خطوات الزراعة من الوسط السائل :

1. بعد 18 – 24 ساعة من الحضانة ، اخلط القنينة جيداً وانقل عبوة Loop من الـ Blood broth إلى طبق من الـ Blood agar وطبق من الـ (Chocolate agar) . في نفس الوقت حضر لطخة رقيقة Thin smear من الـ Blood broth ، واصبغ بصبغة جرام . واعد الى الحاضنة مرة ثانية .

2. ضع الطبقين في الجرة اللاهوائية Candle Jar وافحص وجود النمو بعد 24 – 48 ساعة ، ثم تخلص من الأطباق إذا كانت النتيجة سلبية .

3. بعد 14 يوماً من الحضانة أعد الخطوة السابقة ثم تخلص من قوارير الأوساط السائلة إذا كانت الشريحة المحضرة تشير إلى نتيجة سلبية وإذا كانت الأطباق تظهر نتيجة سلبية للنمو بعد 48 ساعة من الحضانة .

الزراعة في الوسط السائل Thioglycolate culture broth

1. بعد 18 – 24 ساعة من الحضانة حضر لطخة على شريحة واصبغها بصبغة جرام، وأعد الزراعة على طبق من Blood agar وأنبوب من Thioglycolate medium ، تخلص من الطبق والأنبوب بعد 48 ساعة من الحضانة إذا كانت النتيجة من دون نمو . أعد حضانة قنينة الـ Thioglycolate .

2. بعد 14 يوماً من الحضانة أعد التجربة السابقة ثم تخلص من قنينة الـ Thioglycolate إذا كانت الشريحة والوسط يظهران نتائج سلبية بعد 48 ساعة من الحضانة .

3. إذا أظهرت الشريحة وجود بكتيريا والزراعة الهوائية لم تظهر ذلك عليك أن تحقن طبقاً من Blood agar وتضعه في ظروف لا هوائية.

4. يستخدم نظام API لتشخيص البكتيريا المعزولة على أساس نشاطها الحيوي .

الاستنتاج Conclusion :

إذا كانت الزراعة (Cultures) وإعادة الزراعة (Subcultures) والشرائح المصبوغة تشير إلى نتائج سلبية (Negative) يمكن إعطاء تقرير عن زراعة الدم نقول فيه :

(لا يوجد نمو هوائي ولا غير هوائي بعد 14 يوماً من الحضانة) No growth aerobic or anaerobic after 14 days incubation .

نظام الحضانة والكشف الذاتي BACTEC System

لقد أدخل نظام ذاتي العمل automatic في الكشف عن وجود نمو في أي قنينة داخل الحاضنة وذلك عن طريق الكشف عن وجود غاز ثاني أكسيد الكربون الناتج عن نمو البكتيريا داخل القنينة حيث إن CO_2 هو أحد نواتج الايض الجرثومية . وضمن هذا النظام يوجد نوعان إثنان هما :

1. CO_2 نشط شعاعياً Radio active CO_2 وهذا يكون كناتج نهائي لعمليات الأيض لمركبات تحوي كربوناً معلماً C^{14} مثل الجلوكوز والأحماض الأمينية والكحول ، حيث يقاس هذا الغاز بوساطة حجرة التأين Ionization chamber أي القياس الإشعاعي Radiometry

ب- CO_2 ناتج من كربون غير معلم ويقاس هذا الغاز كمياً بجهاز الطيف الضوئي بالأشعة تحت الحمراء Infrared spectrophotometer . يحقن الدم (أو

سوائل الجسم المعقمة) في قناني الزراعة المحتوية على المواد الغذائية اللازمة للنمو وعادة توضع القناني على هزاز وقاعدة متحركة بتوقيت بحيث تؤدي حركتها إلى انتقال القناني من أمام المكشاف detector الذي بدوره سيدخل إبرتين داخل قنينة زراعة الدم عبر غطائها وفي أعلاها ويسحب الغاز المتراكم فوق الوسط السائل من أعلى القنينة . ويشغل هذا الحيز بغاز جديد وبنفس التركيب (هوائي أو لاهوائي) . إن أي ارتفاع لمستوى CO_2 (أعلى من المعدل الطبيعي للمحتوى الخلوي للدم) هو مبرر للاشتباه بنمو جرثومي .

يرتبط الجهاز بحاسوب يسجل هذه المعلومات والنتائج ويعطي مؤشراً على رقم القنينة التي ظهر فيها غاز CO_2 . وبعدها يقوم الفني بإستخراج القنينة المعنية ويخضعها لعمليات الزراعة اللاحقة لمعرفة نوع البكتيريا النامية .

لقد وفر هذا النظام الوقت والجهد والمال من جراء عدم القيام بعمليات الزراعة الثانوية للتحقق من وجود أو عدم وجود البكتيريا عند نقل عينة من القنينة إلى الأوساط الصلبة طول مدة الحضانة اللازمة . والجدير بالذكر أن هذا النظام قد أفاد كثيراً في استخدام تشخيص عصيات السل *M. tuberculosis* في الدم والعينات الأخرى حيث أعطى النظام إمكانية التحقق من وجودها خلال 5 – 10 أيام . وإذا تم التحقق من النمو بوساطة النظام فيمكن إجراء الزراعة الثانوية Subculture في الوسط p- nitro - α- acetylamino -β- hydroxy propiophenone (NAP) للتمييز بين *M. tuberculosis* و *M. bovis* وخلال 3 ايام من الحضانة .

التحقق غير الزراعي لحالة تعفن الدم :

1. يمكن التحقق من الأنتجين في الدورة الدموية بوساطة التخثر باللاتكس وتتوافر مواد لتشخيص الخميرة والفطريات و group B streptococci و *H. influenzae*

type b و *Strep. pneumonia* و Staph. و *N. meningitidis* ويتم ذلك بالكشف عن أنتجين السكر المعقد Polysaccharide الموجود في جدار خلية الـ *C. albicans* والسكر المعقد الموجود في المحفظة Capsular polysaccharide في الفطر *Cryp. neoformans* و (LPS) سكر الدهون Lipopolysaccharide الموجود في البكتيريا الـ g - ve .

2. استخدام فحص الـ ELISA في الكشف عن الأنتجين في البكتيريا . والفطريات بصفة عامة ، ويعتمد مدى تطبيق ذلك على توفر المواد في الأسواق .

3. استخدام تقنية الوصف التلوني للغاز السائل Gasliquid (GLC) chromatography للتحقق من وجود المخلفات الحيوية للجراثيم في المصل .

4. صبغ غشاء التصفية المستخدم لتصفية الدم المتحلل سواء بالأصباغ العادية أو الجزيئية أثبت سرعة ودقة في نتائج الكشف عن البكتيريا الموجودة في الدورة الدموية .

الجراثيم الموجودة في العيون

M. Orgs. Encountered in Eyes

Eye cultures

بسبب الغسيل المتواصل الذي يحدث للعين من خلال الدموع وأثرها المضاد للجراثيم فإن عددها يعزل من عدة التهابات يكون قليلاً ، إلا إذا كانت العينة متقيحة بوضوح فإنه من الضروري أخذ كمية كبيرة من العينة وحقنها في أنواع مختلفة من الأوساط الزراعية لكي نتأكد من نوع المسبب . والجراثيم التالية تظهر في التهابات العيون بشكل متكرر وهي :

1. التهاب ملتحمة العين Conjunctivitis

Moraxella lacunata

M. tuberculosis

Francisella tularensis

T. pallidum

Y. enterocolitica

Fungi

Viruses

Chlamydia trachomatis

Strep. pneumonia

Staph. aureus

Staph. epidermidis

H. influenzae

H. aegypticus

N. gonorrheae

C. diphtheria

يكتسب التهاب الملتحمة إما من مجرى الولادة المصاب للأطفال حديثي الولادة أو من مصادر خارجية مباشرة وتكون هذه الحالة مصحوبة بوجود إفرازات صديدية في الغالب.

2. التهاب القرنية Keratitis

تنتج هذه الحالة في العادة من خلال تعرض القرنية لكدمة تؤدي إلى خلل في سطح العين ويجب اعتبار الحالة طارئة لأنه من الممكن فقدان البصر خلال 24 ساعة وفي العادة لا تتكون إفرازات صديدية وتشكل البكتيريا 65 - 90٪ من مسببات التهابها ، والجراثيم التي تسبب التهاب القرنية بشكل متكرر هي

Strep. pneumonia

Moraxella lacunata

Ps. aeruginosa

Staph. aureus

Herpes simplex virus

وبنسبة اقل

Mycobacterium sps.

Fungi

Treponema pallidum

Chlamydia trachomatis

Viruses (other than HSV)

3. التهاب العين الداخلية Endophthalmitis

يحدث هذا الالتهاب من جراء كدمة جراحية أو غير جراحية (نادرة) أو نتيجة لانتشار داخلي عبر الدم . تبدأ الأعراض بالظهور بعد 24–48 ساعة من حدوث الكدمة أو الجراحة . والحالة الناتجة بعد الجراحة غالباً ما يكون مسببها من الساكن الطبيعي لسطح العين ، وتشمل المسببات :

Pseudomonas sps.

Fungi

Herpes zoster

Staph. aureus

B. cereus

Herpes simplex

Cytomeglovirus

4. التهاب جفن العين Blepharitis وتسببه البكتيريا التالية

Staph. epidermidis *Staph. aureus*

Moraxella sps. *Proteus mirabilis*

Herpes simplex virus

جمع العينات Collection of specimen وزراعتها Culture

1. تجمع المواد المتقيحة من السطح السفلي لكيس الملتحمة بوساطة ماسحة Swab معقمة لزراعتها ، يجب جمع عينتين منفصلتين من العينين . لزراعة الكلاميديا تستخدم ماسحة جافة من Ca - alginate وتوضع في وسط ناقل مناسب وتؤخذ ماسحة أخرى وتدحرج على شريحة وتصبغ باستخدام Direct Fluorescent Antibody .
2. ومن القرنية يجمع الطبيب اختصاصي العيون كشطات بوساطة مبسط Spatula معقم بالحرارة ، وتزرع الكشطات على Blood Agar و Chocolate Agar و SDA وفي Thioglycolate broth وطبق B.A للزراعة اللاهوائية .
3. ولزراعة عينات من التهاب العين الداخلية يجمع طبيب العيون مواد من حجرة العين الداخلية وزجاج العين و الجروح المتقيحة والجروح المتشققة لتحقن على الأوساط المذكورة أعلاه .
4. ولزراعة عينات من التهاب جفن العين تستخدم ماسحة Swab معقمة لجمع العينة وتزرع على نفس الأوساط السابق ذكرها .

تحضن أطباق B.A و Ch. Agar تحت الظروف الهوائية واللاهوائية وبنسبة عالية من CO2. عند الاشتباه بالإصابة بـ *M. lacunata* تزرع العينة على Loeffler's medium حيث تسبب هذه البكتيريا تحللاً للبروتين الموجود في الوسط وتكون حفرة فيه وإذا اشتبه بوجود *C. diphtheria* كمسبب لالتهاب الملتحمة فيفضل زراعة العينة على Cystine - tellurite . وبعد إتمام العزل والتشخيص لابد من اجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .

ملاحظة :

تتصف الـ *Moraxella lacunata* بأنها g - ve , Coccobacilli سميكة وقصيرة وتترتب على شكل أزواج diplobacilli .

تنمو على .B.A وتطور مستعمراتها حفرة على سطح الوسط المحتوي على البروتين ، تحتاج إلى 37°م للحضانة ودم أو مصل للنمو .

تعطي نتيجة إيجابية مع oxidase وسلبية مع Urease و Citrate ولاتخمر السكريات وتسبب التهاب ملتحمة العين شبه الحاد والمزمن والذي يكون حادا جداً في الزاوية الخارجية من العين .

الجراثيم الموجودة في الاذن

M. Orgs. Encountered in Ears

1. التهـاب الأذن الخارجيـة **Otitis Externa = External Ear Infection**

يشابه التهاب الأذن الخارجية التهاب الجلد والأنسجة الناعمة **Soft tissue** في أي مكان آخر ولكن يختص التهاب الأذن الخارجيـة بمشـكلة ضيـق قنـاة الأذن الخارجيـة وتعرجها .

يتسبب الالتهاب الحاد الموضعي الذي يظهر على شكل بثرة بـ ***Staph. aureus*** بينما تعزى حالة الالتهاب المحمر إلى **group A streptococci** والذي قـد يشـمل القنـاة السمعية الخارجية والأنسجة الناعمة للأذن نفسها .

ويعزى التهاب الأذن الخارجية الحاد المنتشـر (التهـاب أذن السَّباح) إلى البكتيريـا ***Pseud. aeruginosa*** الذي يحدث بسبب التعرض للماء و الحرارة أثناء السباحة .

ينتج التهـاب الاذن الخارجيـة المزمـن مـن تهيـج الخـراج (الإفـرازات الصديديـة) القادم من الأذن الوسطى عند مرضـى التهـاب الأذن الوسـطى المزمـن المتقيـح وذي الطبلـة المثقوبة .

نادراً ماتعزى هذه الحالة للسل أو الزهري أو الجذام .

تسبب الـ ***Mycoplasma pneumonia*** التهاباً بثرياً مزمناً لغشـاء الطبلـة وربمـا يشمل ذلك قناة الأذن نفسها .

2. التهاب الأذن الوسطى Otitis media = middle Ear Infection

يبدأ التهاب الأذن الوسطى الحاد كالتهاب فيروسي ويكون الالتهاب البكتيري تالياً لذلك والبكتيريا التالية هي المسببة لذلك :

H. influenzae 20%	**Pneumococci 33%**
Moraxella catarrhalis 1-3%	**group A strep. 8%**
g - ve enteric bacilli 1-3%	*Staph. aureus 1-3%*

وبنسبة أقل عزل النوعان *Chlamydia trachomatis* و *Myc. pneumonia* من شفط الأذن الوسطى .

يؤدي التهاب الأذن الوسطى المزمن إلى حالة التهاب الخشاء **Mastoiditis** (التهاب العظم الناتئ خلف الأذن) كمضاعفات وتسيطر في هذه الحالة الجراثيم اللاهوائية مثل *Bacteroides fragilis* و**sps. Peptostreptococcus** و **Fusobacterium sps.**

جمع العينات :

لجمع عينة من التهاب الأذن الخارجية تمسح الأذن بمحلول مائي من **Benzylkonium chloride** بتركيز 1 : 1000 من أجل إزالة البكتيريا الموجودة على الجلد ولتجنب التلوث بها حيث يعتبر هذا المحلول مطهراً .

تجمع العينة من الأذن الخارجية بماسحة قطنية **Cotton swab** معقمة . وإذا كان هناك إفرازات صديدية ناتجة عن ثقب في طبلة الأذن يمكن جمع العينة بإبرة معقمة أو جهاز

شفط خاص بوساطة اختصاصي الأذن والأنف والحنجرة . وإذا كانت الإصابة مزمنة أو في العظم الناتئ خلف الأذن تجمع العينة بماسحة أثناء الجراحة وتنقل لاهوائياً للمختبر .

الزراعة :

1. يحقن طبقان من كل من Blood Agar و Chocolate Agar ويحضن طبقان تحت ظروف هوائية وطبقان تحت ظروف لا هوائية . وبخاصة إذا كانت العينة من التهاب الخشاء Mastoiditis

2. تخضع المستعمرات النامية إلى تشخيص شكلي وزراعي وكيميائي حيوي وإذا لزم الأمر إلى تشخيص مصلي .

3. إجراء فحص حساسية البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية .

الجراثيم الموجودة في الجروح والحروق

M. Orgs. Encountered in wounds and Burns

تظهـر التهابـات الجـروح والخراجـات abscesses كمضاعفـات للجراحـة والكدمات والأمراض التي تسبب فتح أو تشقق الجلد والأغشية المخاطية . والجراثيم التالية تسبب هذه الالتهابات .

Staph. aureus	proteus
Strep. pyogen	Morganella
Milleri group strep.	Providencia
Microaerophilic strep.	*E. coli*
Bacteroides	Pseudomonas
Prevotella	Candida
Fusobacterium	Mycoplasma
Clostridium	Mycobacterium

أما التهاب الحروق فإنها ترتبط بحالة تعفن الدم البكتيري Bacteremia وتحمل خطورة الموت وتتدخل لتقبل زراعة الجلد في الجسم Skin grafts . والعديد من الجراثيم تسبب التهاب ندبة الحرق وهذه الجراثيم هي :

Streptococci	*Staph. aureus*

Staph. Epidermidis	pseudomonas
Aspergillus	Candida
Bacteroides	Clotridium

جمع العينات :

تجمع العينات من الجروح والحروق بوساطة ماسحة قطنية معقمة Cotton swab وإذا كان الجرح أو الحرق الملتهب مغطى بقشرة فيفتح بأداة معقمة مثل الإبرة أو الواخزة Lancet ويمكن جمع العينة بحقنة معقمة ذات إبرة واسعة المجرى لتسهيل دخول الإفرازات القيحية داخلها .

الزراعة :

1. تزرع العينات على B.A و Ch.A و SDA و MacC. وتحضن هوائياً ولا هوائياً لأن هناك مسببات كثيرة لاهوائية النمو .
2. تشخص شكلياً وزراعياً وكيميائياً ومصلياً .
3. تجرى تجربة حساسية البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية .

الوحدة التاسعة

الفحوصات المستعملة في تشخيص البكتيريا

الفحوصات المستعملة في تشخيص البكتيريا

Tests employed in bacteriological identification

1) فحوصات السكريات Sugars Tests

تختلف البكتيريا في قدرتها على القيام بالعمليات الحيوية على السكريات واستعمالها كمصدر للكربون والطاقة . ومعرفة مدى قدرة البكتيريا على تحطيم السكر تعطي قيمة تشخيصية .

إن قيام البكتيريا بالعمليات الحيوية على السكريات خاصة عمليات الهدم اللاهوائية ينتج عنها أحماض . وإنتاج الغاز ممكن . ولذلك فإن أفضل الطرق لفحص هذه العمليات هو إجراء فحوصات تشير إلى إنتاج الحامض بغاز أو بدون غاز في أوساط تحتوي على سكر معين كمصدر للمواد اللازمة لذلك . وهناك اختلافات واسعة في نواتج عمليات الهدم أثناء التخمير **Fermentation** .

الأوساط السكرية لفحص تخمير السكريات :

تحتوي الأوساط التي تفحص عليها مدى قدرة البكتيريا على تخمير سكر معين على المحتويات التالية :

أ- مواد مناسبة لتسمح بنمو البكتيريا وتعتمد طبيعة هذه المواد على نوع البكتيريا .

ب- السكريات : حيث تستعمل أنواع مختلفة ومثال ذلك :

1. السكر الأحادي **Monosaccharides** ومثال ذلك :

Pentoses = Xylose , Rhamnose

Hexoses = Glucose , Fructose , Mannose , Sorbose , Galactose

2. السكر الثنائي **Disaccharides** ، ومثال ذلك :

Sucrose , Maltose , Lactose , Trehalose , Cellobioes

3. السكر الثلاثي **Trisaccharides** ، ومثال ذلك : **Raffinose**

4. عديد التسكر **Polysaccharides** ، ومثال ذلك :

Starch , Inulin , Dextrin , Glycogen

5. سكر كحولي **Sugar alcohol** ومثال ذلك :

Glycerol , Eythritol , Adenitol , Mannitol , Dulcitol , Sorbitol , Inositol .

ج. كاشف مناسب بحيث يتغير اللون فقط عند تكوين الأحماض خلال عملية تخمير السكر .

د. أنبوب تخمير مقلوب صغير اسمه **Durham's fermentation tube** يوضع في كل أنبوب ليبين إنتاج الغاز ، أو إضافة **Agar** يفيد في الكشف عن تكوين الغاز بإرتفاع الآجار عن قاع الأنبوب .

: Methyl red Test

تستخدم هذه التجربة للتحقق من إنتاج كمية كافية من الحامض أثناء تخمير الجلوكوز والذي يظهر بتغير في لون الكاشف الـ **Methyl red** الذي يضاف في نهاية فترة الحضانة .

الطريقة :

احقن الوسط السائل **(Glucose Phosphate Peptone Water)** بالنمو اليانع **Young Culture** وضع في الحاضنة تحت درجة 37م لمدة 48 ساعة ثم أضف خمسة قطرات من محلول **Methyl red** وامزج جيداً وخذ النتيجة حالاً . فإذا ظهر اللون الأحمر اللامع تكون النتيجة إيجابية ، وإذا ظهر اللون الأصفر تكون النتيجة سلبية . وإذا حصل لبس في النتيجة فيجب استمرار الحضانة للنمو لمدة خمسة أيام ، ولبعض الجراثيم يفضل حضنها لمدة خمسة أيام تحت درجة 30م بدلاً من 37 .

ويتكون محلول هذا الكاشف من 0.1 جرام Methyl red مضافاً إليه 300 مللتر إيثانول ويسوى الحجم إلى 500 مللتر بإضافة الماء المقطر .

ملاحظة : النمو اليانع Young Culture هو النمو الذي يتراوح عمره بين 24–48 ساعة كحد أعلى .

(V. P.) Voges - Proskauer test

هناك عدة أنواع من البكتيريا تخمر السكريات منتجة Acetyl Methyl Carbinol أو 2,3 Butylene Glycol كناتج لاختزالها .

تجرى هذه التجربة عادة مع تجربة Methyl red Test طالما أن إنتاج هاتين المادتين لا يؤدي إلى تراكم كميات كافية من الحامض تكفي لإعطاء نتيجة إيجابية مع تجربة الـ Methyl red ، ويمكن أن تعطي البكتيريا الواحدة نتائج متغايرة مع التجربتين ، فإما أن تكون :

Methyl red + ve & V.P. - ve أو Methyl red - ve & V.P. + ve

الوسط المستخدم هو Glucose Phosphate Peptone Water

الطريقة :

ضع النمو Culture في الحاضنة تحت درجة 37 أو 30م لمدة 48 ساعة .
أضف 1 مللتر من 40٪ من محلول هيدوركسيد البوتاسيوم و 3 مللتر من 5٪ من محلول α - naphthol في أثنيول مركز . ظهور اللون الزهري خلال 2 – 5 دقائق يكون دلالة على التفاعل الإيجابي .

إسالة الجلاتين Gelatin Liquefaction

تستطيع الجراثيم التي تفرز أنزيمات محللة للبروتين Proteolytic أن تهضم البروتين ، وبالتالي يمكن أن تسيل الجلاتين والمصل المتخثر .

تستطيع الجراثيم النشطة في إفراز هذه الأنزيمات أن تحلل اللحوم والمصل والجلاتين بينما الجراثيم الضعيفة في ذلك لا تسطيع مهاجمة اللحوم وتحليلها وأحياناً المصل المتخثر . وهكذا فإن إسالة الجلاتين وتحليله يستخدم كدليل على قدرة الجرثومة على تحليل البروتينات ، وهذه الصفة مستخدمة للتمييز بين الجراثيم وتحتاج النتيجة الإيجابية لكي تكون واضحة إلى عدة أيام (24 ساعة – 5 أيام) .

من الناحية الغذائية فإن الجيلاتين لا يساعد على نمو الجراثيم . وإنما يضاف إلى الأوساط السائلة ويحولها إلى شبيه الجلي ، وتسمى هذه الأوساط Nutrient Gelatin ، وكمية الجلاتين التي تستخدم هي 12٪ ، ويجب عدم تعريض وسط الجلاتين للحرارة العالية لوقت طويل لأن ذلك يتسبب في إسالة جزئية وعدم تجميد مع التبريد .

الطريقة :

يحضر أنبوب من وسط الجلاتين ويحقن بوساطة الطعن Stab باستخدام (Wire) يحمل على رأسه نمواً (Culture) مأخوذاً من وسط صلب . تحتاج البكتيريا الضارة إلى درجة حرارة 37م ، ويمكن مشاهدة النتيجة السلبية بعد 30 يوماً كحد أعلى ، وتتم إذابة الجلاتين على طول خط الحقن تحت درجة 24م ، أما تحت درجة 37م فيصبح سائلاً . ويتم تفحص النتيجة بإزالة الأنبوب من الحاضنة ووضعه تحت درجة 4م لمدة 30 دقيقة قبل أخذ النتيجة .

فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين H2S -Production test

تستطيع بعض الجراثيم أن تحلل الكبريت في الأحماض الأمينية لتكوين كبريتيد الهيدروجين مع النواتج الأخرى . ويتم تفحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين بقدرته على تكوين ملح كبريتي أسود غير قابل للذوبان .

الطريقة :

احقن الوسط (Gelatin , Nacl , Peptone,Meat extract) بوساطة سلك مستقيم إلى عمق نصف إنش تقريباً وضع في الحاضنة تحت درجة 20م لمدة 7أيام كحد أدنى، تفحص يومياً لتكوّن السواد بسبب تكون كبريتيد الهيدروجين .

فحص إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني

Phenylalanine deaminase test

تعمل هذه التجربة لكي تظهر قدرة الجرثوم على إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني phenylalanine منتجاً Phenylpyruvic acidالذي يتفاعل مع أملاح الحديد ليعطي اللون الأخضر وتكمن هذه القدرة في إنتاج الجرثوم للأنزيم deaimnase .

الطريقة :

احقن أنبوب الوسط الصلب المحتوي على هذا الحامض الأميني (Phenylalanine) مستعملاً كمية كبيرة من البكتيريا واحضن تحت درجة 37م لمدة 4 ساعات أو 24 ساعة إذا لزم الأمر . اسمح لبعض القطرات من 10٪ من محلول كلوريد الحديد بأن تمر فوق النمو على الوسط ، فإذا كانت النتيجة إيجابية فسيتكون اللون الأخضر على الوسط والأنبوب .

: Indole Test

تظهر هذه التجربة قدرة الجرثوم على تحليل الحامض الأميني Tryptophane وتحويله إلى Indole والذي بدوره سيتراكم في الوسط .

الطريقة :

احقن الوسط بالبكتيريا واحضنه لمدة 48 ساعة تحت درجة 37م ، في بعض الأحيان يحتاج إلى حضانة لمدة 96 ساعة تحت درجة 37م للسماح لتراكم كمية جيدة من

الـ Indole . أضف 0.5 مللتر من محلول Kovac's وحرك بلطف . تكوين اللـون الأحمر يكون دلالة على النتيجة الإيجابية للتجربة .

تركيب محلول Kovac's

Amyl or isoamyl alcohol	150 ml.
P - Dimethyl aminobenzaldeyhde	10 gm.
Conc. Hydrochloric acid , Hcl	50 ml.

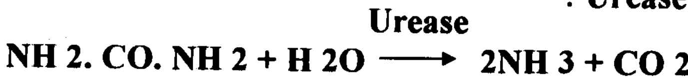
أذب الـ Aldehyde في الكحـول ثـم أضـف الحـامض ببـطء ، حضـر بكميـات بسيطة واحفظ في الثلاجة ، حرك جيداً قبل الاستعمال .

تركيب الوسط المستعمل

Peptone (Containing tryptophane)	20 gm.
Nacl	5 gm.
Distilled Water	1000 ml.

فحص تحليل اليوريا Urease test

إن البكتيريا خاصة التي تعيش في جو معرض للبـول يمكـن أن تحلـل اليوريـا Urea بوساطة أنزيم Urease :



$$NH_2.CO.NH_2 + H_2O \xrightarrow{Urease} 2NH_3 + CO_2$$

ويمكـن فحـص وجـود هـذا الأنزيـم بتنميـة البكتيريـا في جـو يحتـوي علـى اليوريـا والتحقق من إنتاج الأمونيا باستعمال كاشف مناسب .

الطريقة :

احقن البكتيريا المراد فحصها بكثافة فوق وسط Christensen's Medium واحضن تحت درجة 37م ، تفحص بعد مضي 4ساعات ثم بعد 24ساعة ,لا يجوز التخلص من أي أنبوب لعدم ظهور نتيجة إيجابية قبل مضي 4 أيام كاملة. تنتج البكتيريا التي تعطي نتيجة إيجابية لهذا الفحص لوناً بنفسجياً إلى زهري بسبب تغير لون الكاشف

Catalase test

تظهر هذه التجربة وجود أنزيم الـ Catalase الذي يحفز على تحرير الأكسجين من فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide (H_2O_2) .

الطريقة :

تكون البكتيريا المراد فحصها نامية على سطح الوسط الصلب و التي مضى على زراعتها مدة 24 ساعة . يضاف إليها 1 مللتر من محلول فوق أكسيد الهيدروجين ، ويحفظ أنبوب النمو Culture بوضع مائل , أو أن تؤخذ كمية بسيطة من النمو وتضاف إلى أنبوب صغير يحتوي على محلول فوق أكسيد الهيدروجين . إنتاج فقاعات الغازGas bubblesمن سطح النمو Culture أو من السائل في الحالة الثانية يكون دلالة على النتيجة الإيجابية .

Oxidase test

ينظر إلى التفاصيل صفحة 117 التابعة الـ Neisseria .

Citrate test

توضح هذه التجربة قدرة الجرثوم على الاستفادة من الCitrate كمصدر وحيد للطاقة و النمو ، و أملاح الأمونيوم كمصدر وحيد للنيتروجين ، ويمكن استعمال :

Simmon's citrate agar أو Koser's liquid citrate medium

الطريقة :

احقن الوسط : أحد الوسطين أو الاثنين معاً بمعلق البكتيريا في المحلول الملحي Saline . احضن لمدة 96 ساعة تحت درجة 37م . يمكن قراءة النتائج كما يلي :

1) Koser's Citrate Medium

إيجابية = عكورة – يعني النمو .

سلبية = دون عكورة .

إذا حصلت على نتيجة إيجابية يجب إعادة الزراعة مرة أخرى في أنبوب آخر لتجنب النتيجة الإيجابية الخاطئة **False Positive Result** .

2) Simmon's Citrate Medium

إيجابية = ظهور لون أزرق وخطوط النمو .

سلبية = ثبات اللون الأصلي الأخضر وعدم وجود النمو .

تجربة اختزال النيترات Nitrate Reduction test

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم **Nitrate Reductase** الذي يسبب اختزال النيترات NO_3 في وجود معطٍ مناسب للالكترونات ، ونتيجة هذا الاختزال هو تكوين النيترايت NO_2 (Nitrite) وعلى الأغلب معظم أعضاء العائلة المعوية **Enterobacteriaceae** تختزل النيترات .

الطريقة :

احقن أنبوب الوسط (يحتوي على KNO_3 وبتون وماء مقطر) واحضن لمدة 96 ساعة .

محلول التجربة Test Ragent

Solution A. Dissolve 8.0 gram of sulphanilic acid in 1L. of 5 N acid

Solution B. Dissolve 5.0 gram of α - naphthylamine in 1L. of 5 N acetic acid

امزج كميتين متساويتين من هذين المحلولين لإعطاء محلول التجربة . أضف 1 مللتر من محلول التجربة إلى النمو Culture المراد فحصه ، يظهر خلال دقائق قليلة لون أحمر يكون دليلاً على تكوين الـNitrite (NO_2) ، وهكذا تظهر قدرة البكتيريا على اختزال (NO_2) .

Coagulase test

ينظر التفاصيل صفحة 92 التابعة لل Staphylococci

Quellung test

ينظر التفاصيل صفحة109التابعة لـpneumococci

Bile solubility

ينظر التفاصيل صفحة108التابعة لـ Pneumococci

ONPG (beta- galactosidase) Test

يستفاد من قدرة البكتيريا على تخمير اللاكتوز في التعرف عليها وتشخيصها خاصة أعضاء العائلة المعوية Enterobacteriaceae ، وهناك بعض أنواع البكتيريا القولونية لا تخمر اللاكتوز أو تخمره ببطء ، مما يؤدي إلى إرباك في التشخيص بين الـ Salmonella والـ Citrobacter . يعتمد تخمير اللاكتوز على أنزيم الـ Permease الذي يسمح

للاكتوز بالدخول إلى الخلية البكتيرية . ويقوم أنزيم الـ Beta - Galactosidase بتحطيم اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز . لا تحتوي البكتيريا المخمرة للاكتوز ببطء على أنزيم الـ Permease وظهور أنزيم الـ Beta - Galactosidase ، في هذا النوع من البكتيريا يؤدي إلى تحقق سريع واعتبارها كبكتيريا مخمرة لسكر اللاكتوز .

يمكن التحقق من وجود هذا الأنزيم باستخدام أقراص مكونة من Ortho - Nitrophenyl - Beta - Galactoside (ONPG) تذاب بالماء المقطر وتحقن في معلق البكتيريا المراد فحصها وتحقن تحت درجة 36م لمدة 6 ساعات . ويتم الكشف عن تحطيم ONPG بتحرير Ortho - Nitrophenol الذي يتلون بالأصفر خلال 30 دقيقة . وهكذا فإن النتيجة الإيجابية لفحص ONPG تدل على ان البكتيريا تحوي أنزيمات مخمرة للاكتوز وتصنف على أنها من مخمرات اللاكتوز .

Arginine Dihydrolase (ADH) Test

وفي هذا الفحص يتم التحقق من قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم Arginine Dihydrolase الذي يحلل الحامض الأميني Arginine إلى Ornithine وأمونيا وCO_2 وهذا يرفع PH الوسط ، وفي وجود الكاشف Phenol red يتغير اللون من الأصفر إلى الأحمر ليدل على النتيجة الإيجابية بعد فترة حضانة تستغرق 24 – 48 ساعة .

Lysine Decarboxylase (LDC) Test

يتم التحقق في هذا الفحص من إنتاج البكتيريا لأنزيم Lysine decarboxylase الذي يحلل الحامض الأميني Lysin لينتج مجموعة الأمين الأساسية Cavaderine وهذا يرفع PH الوسط وفي وجود الكاشف Phenol red يتغير اللون الأصفر إلى الأحمر خلال 24–48 ساعة .

Ornithine Decarboxylase (ODC) Test

تؤدي قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم Ornithin decarboxylase إلى تحليل الـ Ornithine إلى مجموعة الأمين الأساسية و Putrescine وهذا يرفع PH الوسط ومع وجود الكاشف Phenol red يتغير اللون من الأصفر إلى الأحمر خلال 24 – 48 ساعة من الحضانة .

Tryptophane Deaminase (TDA) Test

ومن خلال هذا الفحص يتم التحقق من قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم TDA الذي يحلل الحامض الأميني Tryptophane إلى Indolepyruvic acid وهذا ينتج اللون البني المحمر عند إضافة قطرة واحدة من 10٪ من محلول كلوريد الحديد إلى الوسط المحتوي على Tryptophane والمحقون أصلاً بالبكتيريا المراد فحصها بعد إتمام فترة الحضانة اللازمة لذلك .

L - Pyrrolidonyl -β- Naphtylamide Hydrolysis (PYR) test

تملك البكتيريا *S. pyogen* و.Enterococcus Sps القدرة على إنتاج أنزيم aminopeptidase ، Pyroglutamyl الذي يحلل القيم Substrate المحتوى على amide وينتج عن ذلك β-naphthylamine الذي يتحد مع محلول Cinnamaldehyde ليكون ناتجاً نهائياً بلون أحمر لامع .

الطريقة :

أنشر المستعمرة المراد فحصها على ورقة ترشيح مشبعة بـ PYR ثم أضف قطرة من محلول الكشف الذي يحل أثناء إجراء التجربة المكون من Dimethylaminocinnamaldehyde ولاحظ تكون الأحمر خلال 5 دقائق . تتوافر مواد التجربة كمنتج لشركة Scott .

: Hippurate Hydrolysis Test

تتميز بعض أنواع البكتيريا بقدرتها على إفراز أنزيم Hippuricase الـذي يحلـل Hippuric acid (H.A) ومنها Listeria Sps. و β - hemolytic Strep. و *Gardnerella vaginalis* وغيرها . ينتـج عـن تحليـل الـ Hippuric acid إنتـاج الجلايسين glycine وحامض البنزويك Benzoic acid وتـزال مجموعـة الأمـين بأكسيد الجلاسين بوساطة ninhgdrin والناتج يكون لوناً بنفسجياً . يجب إحتواء وسـط الفحـص على H.A فقط لأن احتواءه على أي حامض أميني سوف يعطي نتيجةً إيجابيةً .

الطريقة :

- حضر 1٪Na - hippurate (1جرام من Na-hipp. + 100 سم³ ماء مقطـر) ووزع 0.4 سم³ في كل أنبوب واحتفظ بالتجميد لمدة لا تزيد عن 6 أشهر .
- حضر محلول ninhydrin (بإذابة 3.5 جرام مـن ninhydrin في 50سـم³ acetone و 50سم³ Butanol) ، وامزج المحلولين ثـم أضـف إليهمـا ninhydrin ، واحفـظ في زجاجة غامقة ومحكمة الإغلاق لمدة لا تزيد عن 6 أشهر .
- احقن أنبوب Na - hippurate الذائب بالنمو المعزول وبكثرة ، سينتج معلقاً حليبياً . ضع الأنبوب في حمام مـائي بدرجـة 35م لمـدة سـاعتين ثـم أضـف 0.2سـم³ مـن محلـول ninhydrin واحضن لمدة 15 دقيقة أخرى ، راقب تكّـون لـون بنفسـجي ليـدل على تحليل H.A وإعطاء نتيجة إيجابية .

: Niacin Test

تتميز الـ *M. tuberculosis* وأنواع قليلة أخرى تتبع لنفس الجنس بعدم قدرتها على تحويل الـ niacin المتراكم في وسط التنمية إلى أية مركبات حيوية أخرى بسبب عدم توفر الأنزيم اللازم لذلك .

يجب أن تكون البكتيريا الخاضعة لهذا الفحص قد زرعت على الوسط .L. J ولمدة لا تقل عن 3 أسابيع .

الطريقة :

أضف 1سم³ ماء مقطر معقم إلى سطح الوسط الذي يحوي المستعمرات المراد فحصها . أَملْ الأنبوب ليصبح أفقياً وذلك للسماح للماء بالانتشار فوق السطح كاملاً وبنفس الماصة التي أضيف الماء بها اثقب سطح الوسط ليذوب الـ niacin المتراكم في ماء الوسط .

أحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 – 30 دقيقة أو أكثر لإعطاء تفاعلٍ أقوى . اجمع 0.6 سم³ من الماء المقطر من أنبوب النمو حيث يكون عكر المظهر في أنبوب اختيار ذي غطاء محكم ، ثم أدخل شريط الكشف عن وجود niacin (متوفر تجارياً من شركة Difco) إلى داخل الأنبوب ثم أغلق بإحكام وانتظر في درجة حرارة الغرفة ولمدة 20 دقيقة .

لاحظ تغير لون السائل، فإن تكون اللون الأصفر فهو دلالة على النتيجة الإيجابية . ويكون واضحاً على خلفية بيضاء وإذا لم يتغير لون السائل تكون النتيجة سلبية .

: Tellurite Reduction Test

تتغير الـ *M. avium* والأنواع سريعة النمو من الجنس Mycobacterium بإنتاجها لأنزيم tellurite reductase الذي يختزل الـ K-tellurite إلى tellurite معدني يظهر كراسب أسود .

الطريقة :

حضر 2سم^3 من محلول K-tellurite (0.1 جرام K-tellurite + 50سم^3 ماء مقطر) معقم بوساطة الأوتوكليف في أنبوب اختبار واحفظه في الثلاجة لمدة أقصاها 6 أشهر . أحقن الوسط السائل 7H9 بالبكتيريا المراد فحصها واحضن تحت 35م لمدة 7 أيام . أضف 2 – 3 قطرات من محلول K-tellurite إلى أنبوب الزارعة ثم أعد الحضن لمدة 3 أيام أخرى تحت درجة 35م .

تفحص راسب الأنبوب إذا تكون اللون الأسود دل ذلك على النتيجة الإيجابية وعدم تغير اللون مؤشر على سلبية النتيجة .

يوجد تجارب أخرى تستخدم للتمييز بين أنواع هذا الجنس مثل Tween 80 hydrolysis وغيرها .

نظام الـ API

وتفسير هذا المختصر هو Analytical Profile Index

وهذا يعني فهرس الصفات التحليلية وهذا النظام من منتجات شركة bio Merieux الفرنسية . يوجد من هذا النظام العديد من الأنظمة الفرعية ، كل فرع يخدم تشخيصاً بكتيريا أو مجموعة منها ومثال ذلك :

- API 20E لتشخيص عصيات الـ g-ve .
- API 20S لتشخيص المكورات السبحية Streptococci .
- API 20C لتشخيص الخمائر Yeasts .
- API 20A لتشخيص البكتيريا اللاهوائية .

والرقم 20 يدل على استخدام 20 فحصاً وهناك API 10 ويستخدم في هذه الحالة 10 فحوصات .

توجد المواد الأساسية للفحوصات كمواد جافة في قموع Cupules وأنابيب صغيرة Microtubes بلاستيكية تشكل بمجموعها شريطاً عريضاً حيث يضاف معلق البكتيريا المراد فحصها إلى هذه المواد داخل القموع وتحضن لمدة 4 – 6 ساعات في بعض الأحيان (غالباً 24 ساعة) وتقرأ النتيجة . تعتمد قراءة النتائج على التغيرات اللونية لمحتويات هذه القموع .

لقد أعطى هذا النظام للمختبرات قدرة على تشخيص البكتيريا خاصة التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae إلى مستوى النوع وبشكل دقيق وربما ذهب بالتشخيص إلى مستوى النوع الحيوي biotype وبشكل أقل كلفه من الفحوصات الأخرى . توجد أنظمة أخرى أقل شمولية من نظام API مثل Enterotube II لمخمرات الاكتوز و Oxi - ferm لغير مخمرات الأكتوز من منتجات شركة Becton-Dickinson حيث يؤخذ من النمو البكتيري على رأس سلك خاص ويحقن داخل القموع بحيث يمر من خلال جميع القموع المحتوية على المواد الأساسية للفحوصات ويغلق الأنبوب بنفس السلك وتوضع في الحاضنة لتقرأ النتائج بعد ذلك .

يشمل نظام API 20E الفحوصات التالية :

Ortho - nitro - phenyl - β - galactosidase	= ONPG
Arginine dihydrolase	= ADH
Lysine decarboxylase	= LDC
Ornithine decarboxylase	= ODC
Citrate	= CIT
H2S production	= H2S
Urease	= URE
Tryptophane deaminase	= TDA
Indole	= IND

Voges - proskauer	= VP
Gelatin Liquefaction	= GEL
Glucose	= GLU
Mannitol	= MAN
Inositol	= INO
Sorbitol	= SOR
Rhamnose	= RHA
Sucrose	= SAC
Melibiose	= MEL
Amygdalin	= AMY
Arabinose	= ARA
Oxidase	= OX
Nitrate reductase	= NO_3 - NO_2
Motility	= MOB
MacConkey	= MAC
Oxidation - Fermentation	= OF

خطوات استخدام نظام API 20

1. يحفظ شريط القموع Cupules المحتوي على مواد الفحوصات في الثلاجة لحين الاستعمال .
2. سجل اسم أو رقم المريض على المكان المخصص لذلك ثم أضف 5سم3 ماء حنفية إلى صينية الحضانة لتزويد الرطوبة ثم افتح عطاء الشريط وخذ واحداً لكل صينية حضانة .
3. بوساطة Wireloop معقم التقط مستعمرة منفردة من طبق النمو وامزجها بماء مقطر معقم أو محلول ملحي معقم مزجاً جيداً للحصول على معلق بكتيري .

4. بوساطة قطارة معقمة احقن جميع القموع بمعلق النمو وأمِلْ صينية الحضانة واملأ مقطع الأنابيب الصغيرة وذلك بوضع رأس القطارة معاكساً لجهة القمع . يجب تعبئة الأنبوب والقمع التابعين لـ CIT و VP و GEL بالمعلق . ثم املأ قموع ADH و LDC و ODC و URE بزيت معدني معقم .

5. غطِّ الشريط بالغطاء البلاستيكي وضع في الحاضنة تحت 35-37°م لمدة 18-24 ساعة .

6. خذ النتائج بعد 18 وقبل 24 ساعة وسجلها على النموذج الخاص والموضوع في الشكل اللاحق ، تلاحظ نتائج التخمير (لاهوائية) من القاع إلى السطح ونتائج الأكسدة (هوائية) من السطح إلى القاع .

إذا أظهرت نتيجة الجلوكوز إيجابية أضف محاليل الكشف إلى TDA و VP، إذا كانت إيجابية تظهر TDA فوراً و VP بعد 10 دقائق ، ثم يضاف محلول Kovac's لأنبوب IND . تضاف محاليل Oxidase إلى H2S أو ONPG ليظهر التفاعل بعد 5 - 20 دقيقة . يجب ملاحظة عدم إضافة محاليل الكشف إلا بعد تفحص أنبوب GLU لوجود غاز أم لا . ويجب إتمام فحصي nitrate والـ Indole في آخر الأمر لأنهما ينتجان غازاً يتداخل مع فحوصات أخرى في الشريط. ويجب عدم إعادة الغطاء البلاستكي بعد إضافة محاليل الكشف . تجرى تجربة الحركة باستخدام تقنية القطرة المعلقة و تفحص مجهرياً.

7. لتشخيص البكتيريا يجب أخذ النتائج بشكل إجمالي وتحول نتائج الواحد و العشرين فحصاً إلى 7 أرقام بوضعها في مجموعات ثلاثية كل ثلاثة فحوصات في مجموعة بحيث يأخذ كل فحص إيجابي في النتيجة قيمة رقمية هي نفس الرقم الموجود أعلى رمز الفحص . ثم ينظر للرقم المكون من 7 أرقام في الفهرس حيث أن كل بكتيريا تحمل رقماً مكوناً من 7 أرقام . والفهرس يحوي حوالي 1000 نوع يتبع للعائلة المعوية Enterobacteriaceae وأنواع أخرى من عصيات الـ g-ve بحيث لا يؤدي التشخيص على مستوى النوع إلى خلل وتغطي حوالي 90٪ من السلالات الموجودة في العينات المرضية . والكشف التالي يوضح كيفية رصد النتائج والخروج بالقيمة الرقمية ذات السبعة أرقام .

فهرس يوضح أرقام وأسماء البكتيريا حسب نظام API

```
0 526 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 526 000
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.69  (URE   99%)
0 530 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 530 000
  Proteus mirabilis   %id=99.8  T=0.72  (GLU   96%)
0 532 000   EXCELLENTE IDENTIFICATION      EXCELLENT IDENTIFICATION     AUSGEZEICHNETE IDENTIFIZIERUNG     0 532 000
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.76  (GLU   96%)
0 534 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 534 000
  Proteus mirabilis   %id=99.7  T=0.94
0 534 001   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 534 001
  Proteus mirabilis   %id=99.8  T=0.61  (AMY    1%)
0 534 002   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 534 002
  Proteus mirabilis   %id=99.7  T=0.61  (ARA    1%)
0 534 020   IDENTIFICATION ACCEPTABLE      ACCEPTABLE IDENTIFICATION    AKZEPTIERBARE IDENTIFIZIERUNG      0 534 020
  Proteus mirabilis   %id=89.2  T=0.61  (SAC    1%)
0 534 040   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 534 040
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.61  (MEL    1%)
0 534 100   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 534 100
  Proteus mirabilis   %id=99.7  T=0.61  (MAN    1%)
0 535 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 535 000
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.71  (VP     4%)
0 536 000   EXCELLENTE IDENTIFICATION      EXCELLENT IDENTIFICATION     AUSGEZEICHNETE IDENTIFIZIERUNG     0 536 000
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.98
0 536 001   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 536 001
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.65  (AMY    1%)
0 536 002   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 536 002
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.65  (ARA    1%)
0 536 020   BONNE IDENTIFICATION           GOOD IDENTIFICATION          GUTE IDENTIFIZIERUNG               0 536 020
  Proteus mirabilis   %id=98.3  T=0.65  (SAC    1%)
0 536 040   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 536 040
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.65  (MEL    1%)
0 536 100   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 536 100
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.65  (MAN    1%)
0 537 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 537 000
  Proteus mirabilis   %id=99.9  T=0.75  (VP     4%)
0 574 000   FAIBLE DISCRIMINATION          LOW DISCRIMINATION           UNGENUEGENDE SELEKTIVITAETSID.     0 574 000
                                                |                        XYLOSEac    TRE.ac    GLYCEROLac
  Morganella morganii %id=77.7  T=0.67  (H2S    1%)   |Morganella morganii    0%         10%        5%
  Proteus mirabilis   %id=22.2  T=0.66  (IND    2%)   |Proteus mirabilis     98%         98%       70%
0 576 000   TRES BONNE IDENTIFICATION      VERY GOOD IDENTIFICATION     SEHR GUTE IDENTIFIZIERUNG          0 576 000
  Proteus mirabilis   %id=99.5  T=0.70  (IND    2%)
0 600 004   BONNE IDENTIFICATION           GOOD IDENTIFICATION          GUTE IDENTIFIZIERUNG               0 600 004
  Ps.putrefaciens     %id=92.2  T=0.72  (ODC   80%)(GEL   93%)
0 600 024   BONNE IDENTIFICATION           GOOD IDENTIFICATION          GUTE IDENTIFIZIERUNG               0 600 024
  Ps.putrefaciens     %id=98.6  T=0.55  (ODC   80%)(GEL   93%)(SAC    9%)
```

api 20 E 07223 A

REF. :

Origine / Source / Herkunft / Origen / Prelievo :

bioMérieux

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO_2	N_2	MOB	McC	OF-O	OF-F
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4

Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests :

Ident. :

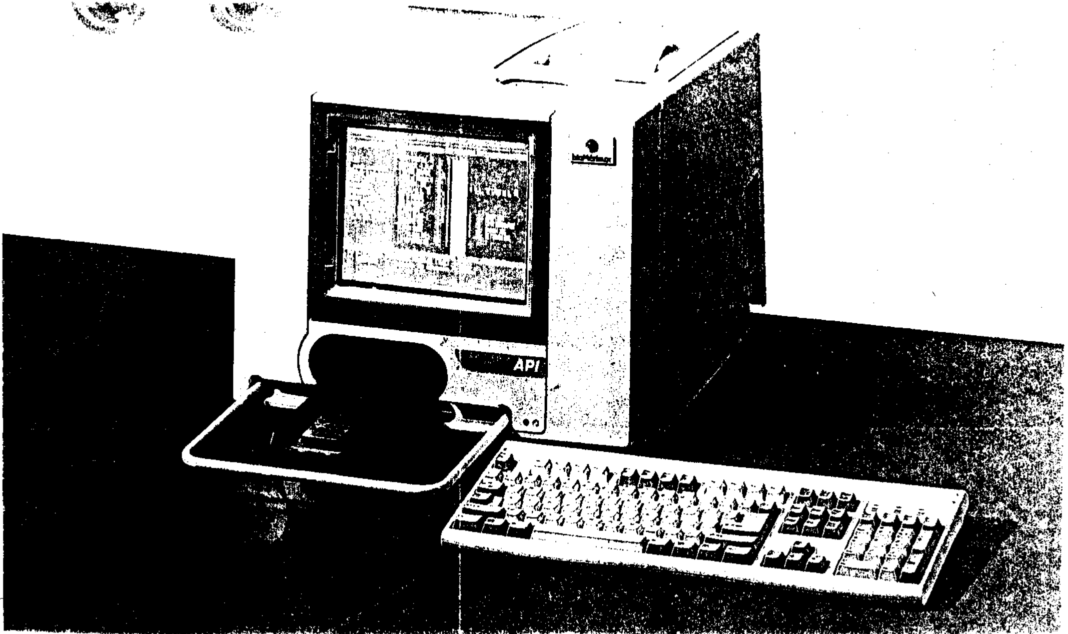
يوجد نظام التعرف التحليلي Profile recognition System (PRS) المرتبط بالحاسوب حيث يملك القدرة على تشخيص أكثر من 150,000 سلالة جمعت من عدد من المعاهد المتخصصة حيث تعطي نتائج دقيقة جداً لدرجة تشخيص أنواع غير شائعة في العينات الطبية المرضية .

يتم أخذ القراءات ذاتياً (Automatically) وذلك بوضع شريط القموع والأنابيب الصغيرة الحاوية على المواد الأساسية للتفاعلات وبعد فترة الحضانة اللازمة يوضع في جهاز الحاسوب حيث يقوم الجهاز بتمييز النتائج الإيجابية والسلبية وعمل المجموعات الثلاثية والخروج بالرقم ذي السبع خانات والتعرف على نوع البكتيريا ثم خروج اسم البكتيريا على شاشة الحاسوب ومطبوعاً على ورق بكامل المعلومات عن اسم المريض أو رقمه وأية معلومات كانت قد ثبتت على شريط الفحص .

وفي المؤتمر الأردني الأول للطب المخبري الذي عقد في عمان في شهر نيسان من عام 1997 تقدمت شركة BioMerieux بعرض لهذه الأجهزة ، وكيفية عملها وعرضت منتجات أوسع لنظام API حيث يحوي 32 فحصاً بدلاً من 20 فحصاً وهذا فتح المجال

واسعا لدقةٍ وسعةٍ في مجال تشخيص أنواع جديدة من البكتيريا تم اكتشافها . وسمي الشريط بـ ID32 Strips ثم تقدمت كذلك بنشرات توضح من خلالها إجراء فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية من خلال شريط يحوي 16 – 32 قمعاً كل واحد يحوي مضاداً حيوياً محدداً يضاف إلى كل قمع فيها معلق البكتيريا الخاضعة للفحص وبعد فترة الحضانة اللازمة يدخل الشريط إلى جهاز الحاسوب وتؤخذ النتائج مطبوعة من الجهاز وهذا النظام ساعد على التعامل مع الأدوية الجديدة وأخذ بعين الاعتبار المعرفة السابقة لمقاومة البكتيريا لبعض المضادات الحيوية .

والشكل التالي يوضح جهاز الحاسوب ومميزاته الخدمية في تشخيص الجراثيم .



الطرق غير التقليدية في تشخيص الجراثيم أو منتجاتها

لقد ظهرت تقنيات جديدة في علم الأحياء الدقيقة لم تكن متوقعة في الماضي فبدلاً من الانتظار حتى يرتفع تركيز الأجسام المضادة حتى تشخص الحالة من خلال ذلك أصبح الآن من المكن الكشف عن وجود الأنتجين الموجود في جسم الخلية الجرثومية ،

بالإضافة إلى أن عدداً من المرضى ، ينتجون أجساماً مضادة غير متخصصة تؤدي إلى عدم دقة في التشخيص .

وقد تركزت التقنيات الحديثة على السرعة والتخصصية في الفحوصات ، وقد انقسمت هذه التقنيات من حيث أخذ النتائج وتفسيرها إلى بصرية Visual وذاتية Automatic بوساطة أجهزة ذاتية العمل .

ونذكر من هذه التقنيات :

1- تخثر الجزئيات الجرثومية Particle agglutination

أ. التخثر باللاتكس Latex agglutination

ب. التخثر (التجلط) Coagulation

ج. التخثر اللايبوسوم باللاتكس Liposome-enhanced Latex agglutination

د. فحص اللاكتين Lectin assay (البروتين أو البروتين السكري)

2- ELISA

3- الترحيل الكهربائي Countercurrent Immuno - Electophoresis (CIE)

4- تحضير واستخدام الأجسام المضادة عالية التخصصية

Monoclonial Abs. Prep. and Utilization

5- التحقيق الجيني Genetic Probes

6- تهجين الأحماض النووية Nucleic Acid Hybridization

أ. تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)

وهذا الفحص من أحدث تقنيات تهجين الأحماض النووية المستخدمة في علم الأحياء الدقيقة التشخيصي .

يعتمد مبدأ فحص PCR على تكوين كمية كبيرة ومحددة من الـ DNA من قطعة واحدة منه طالما أن جزءاً من نسق عينة الحامض النووي المعني معروفاً .

تخضع القطع الصغيرة (بطول 10 – 30 قاعدة نيتروجينية) من الـ DNA والتي تشكل جزءاً منه أو من الـ RNA إلى عملية تضخيم وتقع عملية التضخيم على نهايتي سلسلة لبنات الحامض النووي Nucleotides والتي تسمى أساسيات التفاعل وتدعى كذلك taq polmerase . هذا الأنزيم الذي لا يتأثر بالحرارة العالية التي يتعرض لها خلال هذه العملية .

تتكون أساسيات PCR في العادة باستخدام مكون لبنات الـ DNA وهي الـ Nucleotides .

تمزج هذه بالعينة (taq Polymerase مع كمية كبيرة من Nucleotides) ويدار كامل الخليط عدة مرات في دوار حراري خاص thermocycler لعمل ملايين من النسخ طبق الأصل للحامض النووي DNA الهدف اذا كان موجوداً في العينة أصلاً .

تشمل معالجة الـ PCR الحرارية على 30 دورة كما يلي :

94°م لمدة دقيقة .

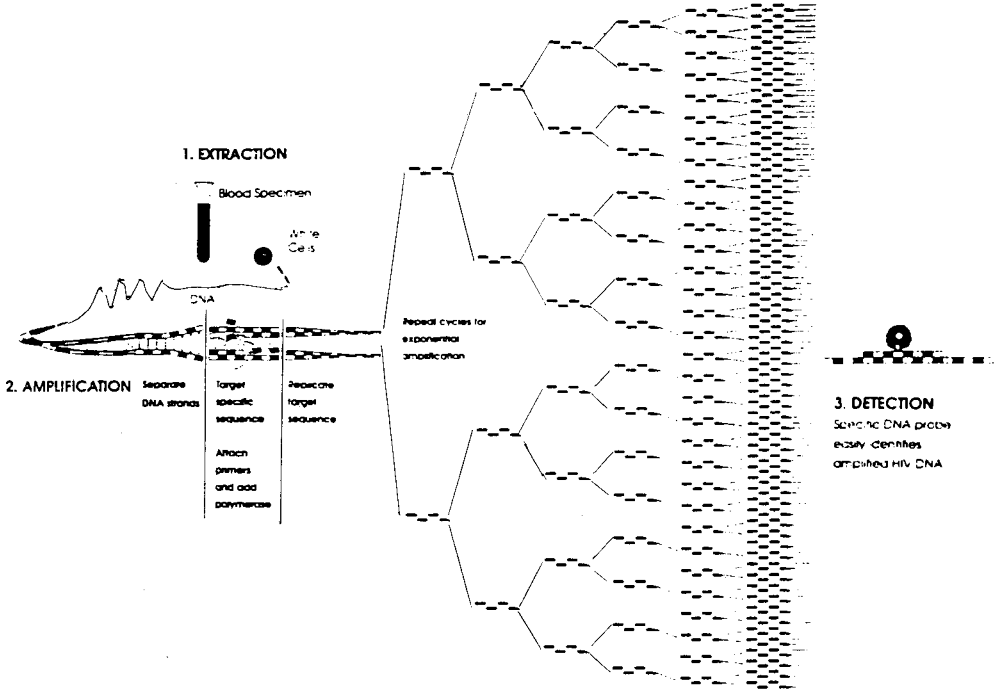
55°م لمدة دقيقة .

72°م لمدة 30 ثانية .

72° لمدة 5 دقائق بعد الدورة الأخيرة .

يتم التحقق من وجود الـ DNA المحدد في نهاية مجرى الـ PCR بعدة طرق ابتداءً من الترحيل الكهربائي على الآجار إلى استخدام التحقيق الجيني Genetic Probe . تتميز هذه التقنية بحساسيتها العالية للتحقق من وجود خلية واحدة في عينة المريض . وحيث أن التجربة تتم خلال يوم واحد فإن ذلك يمكن المختبر من التحقق من عدد كبير من الجراثيم .

والشكل التالي يلخص خطوات الفحص :



وأول ما استخدم الفحص وتطور على الكلاميديا Chlamydia وفيروس الإيدز HIV وبكتيريا السل Mycobacterium في العينات المرضية .

الوحدة العاشرة

الطفيليات Parasitology

أ- الأوليات:

1.الأوليات المعوية .

2.السوطيات الدموية والنسيجية .

3.البوغيات الدموية .

ب- الديدان :

1.الديدان المثقبية .

2.الديدان الشريطية .

3.الديدان الحبلية (الأسطوانية) .

جـ المهارات والتجارب العملية المستخدمة في تشخيص الأمراض الطفيلية .

تعريف علم الطفيليات Parasitology

هو ذلك العلم المنقسم من علم الأحياء ، والـذي يبحـث في ظواهـر اعتمـاد حيـاة كائن حي ما على آخر . حيث يعيش الطفيل علـى العـائل أو فيـه Host وعـادة مـا يكـون العائل هو الكائن الحي الأكبر ، حيث يوفر الحمايـة والتغذيـة للطفيـل Parasite . لذلـك يمكن تقسيم العلاقة بين الطفيل والعائل إلى 4 أقسام هي :

1. إذا كـانت الفـائدة للطفيـل دون حـدوث أذى للعـائل ، فـإن العلاقـة تسـمى Commensalism (تعايشية) .
2. إذا كانت الفائدة للطرفين ، فإن العلاقة تسمى Mutulism وهى العلاقة المشتركة .
3. إذا كـانت العلاقـة وطيـدة بينهمـا ، أي يعتمـد كـل منهمـا علـى الآخـر فإنها تسـمى Symbiosis (رمية) .
4. إذا ألحق الطفيل ضرراً بالعائل تسمى العلاقة بـ Parasitism العلاقة التطفلية .

وأما بالنسبة للعائل ، فإنـه مختلـف الأنـواع ، فـالبعض يتطفـل علـى عـائل نبـاتي ، ويكون له أهمية اقتصادية ، والبعض الآخر يتطفل على الحيوانات غـير الفقاريـة ، والبعـض الآخـر علـى الفقاريـات . بينمـا الـذي يهمنـا هنـا علـم الطفيليـات الطـبي Clinical Parasitology ، وهـذا يبحـث في الطفيليـات الحيوانيـة الـتي تتطفـل علـى الإنسـان ، وأهميتها الطبية وأثرها على المجتمعات الإنسانية .

تاريخ علم الطفيليات :

أول من تحدث عن الطفيليات هم الصينيون ، حيث اعتقـدوا بـأن الإلـه قـد خلـق الإنسان من الحشرات وخاصة القمل واشترك مع الصينيين الرومان واليونان في أنهـم عـزوا ظاهرة الحمى لمرض الملاريا واعتبروها من الطفيليات المسببة لهذه الحمى .

وقد لاحظ المصريون القدامى الديدان **Worms** وبخاصة الديدان الموجودة في لحم البقر المصاب ، وهي ما تسمى الآن بـ ***Taenia Saginata*** كمسبب مرضي للإنسان .

وقد وصف الأطباء الفارسيون في القرن التاسع للميلاد بعض الديدان مثل الأسكارس والتينيا وغيرها . وفي حوالي القرن السابع عشر أعطى العالم **Redi** وصفاً للأجهزة التناسلية لدودة الأسكارس . وقد تلاه العلماء في اكتشافاتهم حتى يومنا هذا حيث تم تصنيف الطفيليات إلى ثلاثة أجزاء رئيسة يمكن أن تسبب أمراضاً للإنسان إذا ما تعرض لها وهي : الأوليات والديدان والحشرات الناقلة .

1) Protozoa **2) Helminthis** **3) Anthropods**

الأوليات Protozoa

تسمى كذلك بالكائنات الوحيدة الخلية Unicellular ، وهي تنحدر من المملكة الحيوانيـة . والكائنـات وحيـدة الخليـة علـى عكـس عديـدة الخلايـا المســماة Metazoa لا تستطيع القيام بالوظائف التكاثرية والحيوية لوحدهـا ، لذلـك يطلـق عليهـا لقـب أبسـط الحيوانات . والأغلب أنها لا ترى إلا تحت المجهر . وتظهر على شكل خلية منفردة .

اشتق اسم Protozoa من الكلمات اليونانية Protos and Zoon وتعـني الأولى (أولى) وتعني الثانية (حيوان) – أي حيوانات أولية– وهناك الآلاف من الأنـواع Species تختلف في الحجم والترتيب والشكل والصفات الوظيفية ، فبعضها ضار وكثير منهـا مفيـد ، والبعض الآخر له القدرة على إنتاج المرض في النباتات والحيوانات . وقد صنفت الأوليــات إلى أربعة صفوف Classes هي :

1) الأميبيات	2) السوطيات	3) الهدبيات	4) البوغيات
Sarcodina (1	Mastigophora (2	Infusaria (3	Sporozoa (4

الأميبا المعوية Amoebae of Intestinal Canal

تنحدر الأميبا من صف Sarcodina Class وتنقسم إلى قسمين :

1. أميبا مسببة للمرض . 2. أميبا غير مسببة للمرض .

الأميبا المسببة للأمراض

Pathogenic Entamoebae / *E. histolytica*

هناك عدة طفيليات تسبب حالـة الديزنظاريا (الزحـار – الأميبي) ، واحـدة منهـا تسبب ذلك في الإنسان والثديات الأخرى وهي *E. histolytica* حيــث تم اكتشـافها عـام 1875م وقد تم اكتشـافها مـن حالـة ديزنطاريـا أميبيـة ، وهـي في الطـور التكـاثري النشـط Trophozoite حيث تسبب تقرح الأمعاء وخروج الدم والمخاط في البراز .

وقد وجد طفيل آخر تابع للأميبا في معظم الناس ، ولكنه غير مسبب للأمراض ، وسمي هذا الطفيل باسم *E. coli* ويكثر في الناس الذين يعيشون في المناطق المدارية وشبه المدارية بينما يقل في المناطق الباردة . ونظراً لأهمية دراسة المسبب للمرض (الديزنطاريا الأميبية) فإننا سوف ندرس كذلك الأميبا غير المسببة للديزنطاريا حتى نتمكن من التمييز بين الضار وغير الضار .

الطفيليات الأميبية التي توجد في الإنسان الطبيعي :

1. *Entamoebae coli* : تتواجد في القولون ويمكن ظهورها في البراز .
2. *Endolimax nana* : تتواجد في القولون ويمكن ظهورها في البراز .
3. *Iodamoeba buetschlii* : تتواجد في القولون ، ويمكن ظهورها في البراز .
4. *E. polecki* : تتواجد في القولون ويمكن ظهورها في البراز .
5. *Dientamoebae fragilis* : حيث تسبب التهاباً خفيفاً في القولون .
6. *E. gingivalis* : حيث توجد في فم الإنسان الطبيعي .

أما الطفيل المهم *E. hitolytica* ، فهو المسبب لحالة الديزنطاريا الأميبية (الزحار) والذي يساعد في انتشار المرض هو عدم توافر الشروط الصحية في البيئة ويمكن التقليل من الحالات بالنظافة البيئية والفردية .

الشكل Morphology :

توجد الأميبا عادة في طورين هما :

1. الحوصلة Cyst : ويتميز هذا الطور بأنه مقاوم للظروف القاسية ويتواجد غالباً خارج جسم العائل ، وهو غير متحرك ويعتبر الطور المعدي للإنسان .
2. النشاط (التكاثري) Trophozoite : ويتميز هذا الطور بأنه غير مقاوم للظروف القاسية أي هش ويموت ويتحلل بعد تركه لجسم العائل ، ومتحرك بنشاط ويتواجد

غالباً داخل جسم الإنسان (العائل) ، وهو الطور التكاثري ، ووجوده وتكاثره في جسم العائل يسبب حدوث الإصابة ، ولا يعتبر هذا الطور طوراً معدياً للإنسان ، حيث إنه يتحلل في عصارة المعدة فيما لو تم تناوله مع الطعام الملوث . تتحرك أنواع الأميبا المختلفة في هذا الطور بالأقدام الكاذبة **Pseudopodes** .

عند دخول الطعام الملوث بحويصلات مسببة مرض الزحار الأميبي وهي الـ *E. histolytica* تقاوم الحوصلة حامضية المعدة ، وترحل إلى الأمعاء وتتحول إلى الطور التكاثري **Trophozoite** ، ثم تتكاثر وتغزو أنسجة جدار الأمعاء ، وتبدأ الأعراض بالظهور ، وكون الطفيل في طور النشاط فإنه يحتاج لأي وسط مناسب لطبيعته النشيطة ، وهذا ينسجم مع البراز السائل ، ولذلك لا يتواجد طور النشاط في البراز الصلب .

يعرف الإسهال بأنه حالة عدم استقرار أو مكوث محتويات الأمعاء لمدة زمنية طويلة ، ولذلك ففي حالة الإسهال يخرج البراز بسرعة من تجويف الأمعاء ، ولذلك لا يكون هناك وقت كافٍ لتحول الطفيل من طور النشاط إلى طور الحوصلة ، وعلى ذلك فيمكن مشاهدة طور النشاط في البراز السائل .

وعلى عكس ذلك فإنه في حالة الإمساك أو عدم وجود حالة الإسهال يكون هناك وقت كافٍ لتحول طور النشاط إلى طور الحوصلة ، والطور الأخير يتناسب مع طبيعة البراز الصلب ، وهذا يفيد الطفيل في أنه يحافظ على نفسه من الانقراض ، فلو خرج الطفيل دائماً في طور النشاط (التكاثري) فإنه سيموت بعد خروجه من جسم العائل ، ويؤدي ذلك إلى الانقراض والفناء .

وفي حالة ما يكون البراز ليناً (**Soft**) فيمكن ظهور الطورين، الحوصلة والنشاط . وفي بعض الحالات النادرة لا يظهر الطفيل في البراز مطلقاً ، لا في طور الحوصلة ولا في طور النشاط رغم وجود الإصابة بالطفيل وفي هذه الحالة يكون الطفيل قد كون تجويفاً في جدار الأمعاء فاختفى فيه ولم يخرج مع البراز ، ويمكن كشف ذلك بالتنظير .

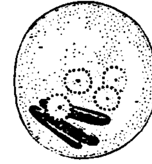
صفات أطوار أنواع الأميبا

1- طور النشاط (الطور التكاثري) :

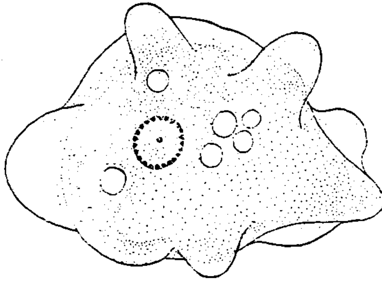
الصفات	1	2	3	4	5
الصفات	*D.fragilis*	*I. buetschtii*	*E. nana*	*E. coli*	*E. histolytica*
الحجم بالميكرون	12 – 5	20 – 8	15 – 6	50 – 15	60 – 10
الحركة	نشيطة ومتطورة	كسولة ومتطورة	كسولة ومتطورة	كسولة نادراً ما تكون متطورة وموجهة	نشيطة متطورة وموجهة
الأقدام الكاذبة	غير حادة تشبه ورقة الشجر وشفافة	شفافة غير حادة – –	شفافة غير حادة –	قصيرة غير حادة، متحببة –	تشبه الإصبع شفافة مثل الزجاج
المحتوى الداخلي	بكتيريا لا يوجد خلايا حمراء	بكتيريا لا يوجد خلايا حمراء –	بكتيريا لا يوجد خلايا حمراء –	بكتيريا لا يوجد خلايا حمراء –	يوجد خلايا حمراء من دون بكتيريا في العينات الطازجة
النواة	غير مرئية	غير مرئية	نادرا ما تكون مرئية	نادراً ما تكون مرئية	عادة غير مرئية

2- طور الحوصلة مع محلول اليود :

لا يوجد	20-5	14-5	33-10	20-3.5	الحجم
طور الحوصلة	—	—	—	—	بالميكرون
=	غير منتظم	دائري إلى كروي	كروي	كروي	الشكل
=	أخضر مصفر	أخضر فاتح	بني مصفر	أخضر مصفر فاتح	السيتوبلازم
=	بني غامق	عادة لا يوجد ، بني	بني غامق	بني محمر	الجلايكوجين
=	واحدةغيرواضحة	1-2 غير واضحة	1-8 واضحات	1-4 واضحات	الأنوية



الحوصلة



طور النشاط (التكاثري)

طرق تكاثر الـ *E. histolytica*

1) Excystation :

وهذه العملية عبارة عن عملية انتقال للحوصلات وتحولها إلى الطور التكاثري Trophozoite ، ويظهر ذلك فقط عند دخول الحوصلات إلى داخل القناة الهضمية في الإنسان . والأميبا المحتوية على أربع أنوية تتحول إلى ثماني أميبات صغيرات Amoebulae أي ان كل نواة تعطي اثنتين وكل واحدة منها تؤدي إلى ظهور واحدة من الـ Trophozoite (الطور التكاثري أو طور النشاط) .

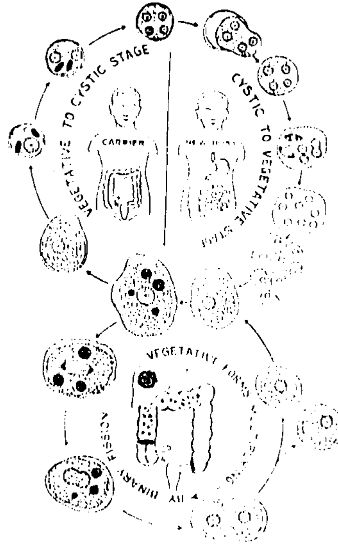
2) Encystation :

وهذه عبارة عن عملية تحويل الـ Trophozoite الطور التكاثري إلى حوصلات ، وتظهر في تجويف الأمعاء في الإنسان المصاب ، وتتم هذه العملية كلها خلال ساعات قليلة ، وطول عمر الحوصلة الناضجة داخل تجويف الأمعاء للعائل الأصلي هو يومان . ويجب ملاحظة أن الحوصلات لا تتطور داخل الأنسجة في الإنسان ولا في جدار الأمعاء ولا في منطقة انتشار غزوها (الكبد ، الرئتين ، أو أي أعضاء أخرى) .

فالحوصلة الناضجة عبارة عن جسم ذي أربع أنوية لأنه خلال الـ Encystation تخضع النواة للانقسام وتعطي أربع أنوية جديدة .

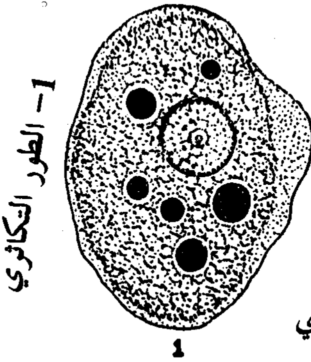
ملاحظة :

كلتا العمليتين السابقتين يمكن أن تظهرا في نفس العائل ، ولكن بعد تكوين الحوصلات يعتبر الانتقال لعائل آخر جديد ضرورياً للمحافظة على النوع .



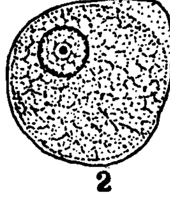
تكاثر الأميبا

مراحل تطور الأميبا



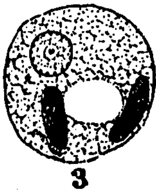
1

1- الطور التكاثري

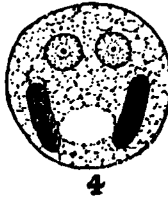


2

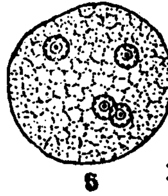
2- طور الحوصلة التمهيدي



3



4



5

3 و 4 و 5 أطوار الحوصلة ذوات النواة الواحدة ثم الاثنتين ثم الأربعة أنوية

3) التكاثر Multiplication :

وهذا يظهر فقط في طور النشاط Trophozoite ، وهذا الطور طفيلي بشكل كبير في معيشته على الخلايا والأنسجة الحية ويتكاثر بأعداد كبيرة ، ويتم انقسام طور النشاط بالانقسام الانشطاري ، ففي البداية تنقسم النواة ثم تليها السيتوبلازم ، وهكذا تتم العملية .

ملاحظة :

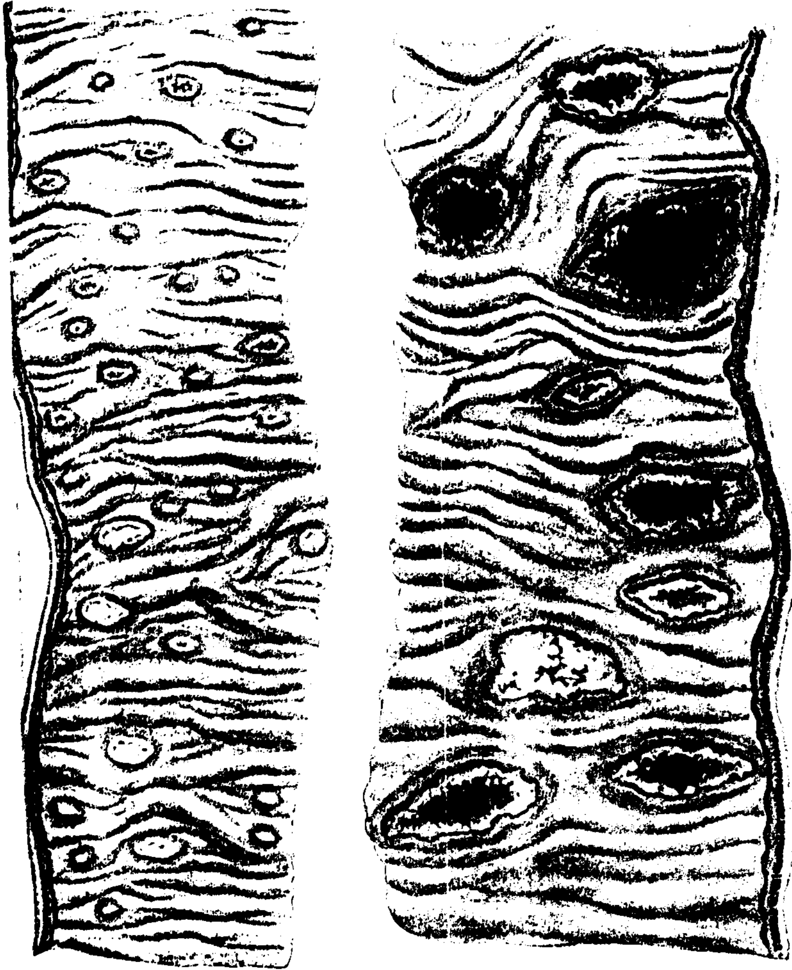
لا تعتبر عملية الـ Encystation عملية تكاثرية ولكنها للمحافظة على النوع من الانقراض .

الإصابة Pathogenicity

تبلغ فترة الحضانة حوالي 4-5 أيام . وهناك إصابتان بالـ *E. histolytica* هما :

1) الإصابة البدائية المعوية : وفيها تبقى الإصابة محدودة في الأمعاء الغليظة حيث تخترق الخلية في طور النشاط الـ Trophozoite الأنسجة الطلائية العمودية في الغشاء المخاطي وبواسطة نشاطها الأميبي وبواسطة إذابتها للخلايا الطلائية المعوية ، وذلك بفعل الأنزيمات المحللة للبروتينات التي تهضم إفرازات هذه الخلايا .

وتواصل اختراقها في العمق باستمرارية تحليلها لخلايا الأنسجة حتى تصل إلى الغطاء شبه المخاطي وتتكاثر بسرعة وبأعداد كبيرة حيث تشكل مستعمرات وتدمر الأنسجة وتتغذى على مخلفاتها . وتبدأ الأميبا بالاختراق داخل الأنسجة من جميع الاتجاهات للمنطقة المحيطة حتى تتدمر الأغشية شبه المخاطية ، ونتيجة هذه العملية هي الموت الموضعي للنسيج Necrosis ، وتكوين التقرحات المعوية والتي تؤدي إلى تكوين القرحة .



حالات معوية حادة مسببة تقرحاً معوياً بسبب طفيل *E. histolytica*

2) الإصابة الثانوية الانتشارية : وفيها تتم هجرة الطور النشط الـ **Trophozoite** مـن الأمعاء لإحداث إصابات في الكبد والرئتين والدماغ :

أ- إصابة الكبد **Amoebic Liver Abscess (Hepatic Amoebiasis)**

ينتقل الطور التكاثري الـ **Trophozoite** بوساطة الوريد البابي من قواعد القرحة المعوية في الأمعاء الغليظة خاصة من القولون الصاعد ، فعند دخولها إلى الكبد تبـدأ بالتكـاثر بأعداد كبيرة ، وتبدأ بعملها ضد الخلايا فتراكم هذه الطفيليـات يـؤدي إلى إغـلاق الـدورة وتكوين الجلطة في الأوردة البابية المتفرعة الصغيرة منتجةً موتاً موضعياً للنسيج الكبدي .



إصابة الكبد (التقرح الكبدي)

ب- الإصابة الرئوية (Pulmonary Amoebiasis)

وتنقسم الإصابة إلى بدائية وثانوية :

1-البدائية : وهـذه نـادراً مـا تحـدث وتظهـر لوحدهـا دون وجـود تقرحـات كبدية ، وفي هذه الحالة ينتقـل الطـور التكـاثري الـTrophozoite مـن الأمعـاء إلى الـدورة البابيـة إلى الشـعيرات الرئوية وتظهـر تقرحـات رئويـة بنفـس الأسـلوب الـتي ظهـرت بـه التقرحات الكبدية .

2-الثانوية : وتظهر كمضاعفات للإصابة الكبدية بوساطة الانتشـار المباشـر عـبر التصاقهـا بالحجاب الحاجر الملامس للكبد وقاعدة الرئة اليمنى وفي هـذه الحالـة تظهـر الإصابـة في الفص الأسفل من الرئة اليمنى .

جـ- الإصابة الدماغية (Cerebral Amoebiasis)

وهـذه حالـة نـادرة مـن انتشـار الأميـا وتظهـر كمضاعفـات للإصابـات الكبديـة والرئوية على التوالي وتظهر التقرحات منفردة وصغيرة الحجم .

د- الإصابة الجلدية (Cutaneous Amoebasis)

تظهر هذه الإصابات نتيجة لغزو الطفيل للجلد وبخاصة في المنطقـة المغطيـة للأمعـاء وسبب الإصابة هو انتقال الطور التكـاثري الـ Trophozoite إلى هـذه المنـاطق ، وتظهـر تقرحات تحببية في الطبقة الطلائية .

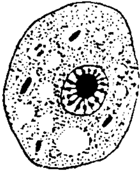
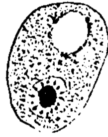
هـ - الإصابة الطحالية (Splenic Abscess)

توجد عادة متحدة ومرتبطة مع وجود التقرحات الكبدية ، ويظهـر انتشـار الطـور التكاثري Trophozoite مباشرة عبر التصاق التواء الطحال بالقولون .

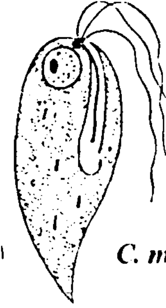
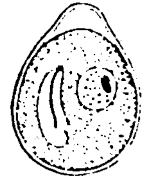
التشخيص المخبري Lab. diagnosis

1. عمل شريحة بالتحضير المباشر باليود والمحلول الملحي لعينة البراز .
2. مشاهدة المخاط والدم في عينة البراز .
3. دراسة نسيجية للكبد والطحال والرئة .

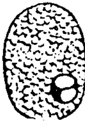
أشكال الطفيليات الأميبية الطبيعية

حوصلة طفيل *Iodameba buetschii* الطور النشط

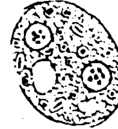



حوصلة طفيل *C. mesnili.* الطور النشط

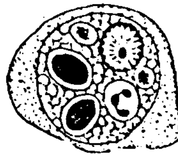





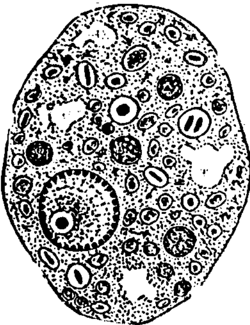
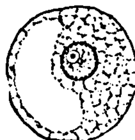
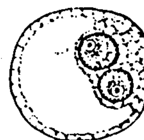
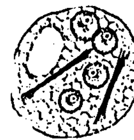
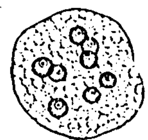
اشكال حوصلة طفيل *Endolimax nana.* طور النشاط



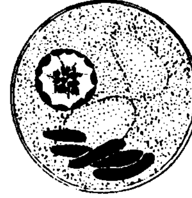

شكلان للطور النشط الطفيل *D.fragilis*



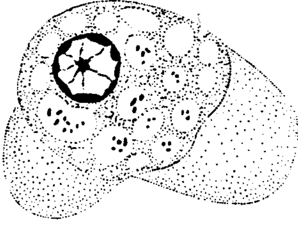
طور النشاط والطفيل *E.ingivalis*

مراحل تطور الحوصلة (من نواة واحدة إلى ثماني أنوية) لطفيل الأميبا ***Entamoeba coli.***



حوصلة طفيل *E. polecki*



طور النشاط

السوطيات المعوية Intestinal Flagellates

Trichomonas hominis

سميت السوطيات بهذا الاسم لأنها تتحرك بالأسواط وليس بالأقدام الكاذبة .

الشكل Morphology:

يظهر هذا الطفيل على شكل حبة الكمثري بنهايتين أمامية عريضة ونهاية خلفية مدببة رفعية ، ويحتوي على سوط إضافي يسير ، وحافة الغشاء المتموج ، وتحتوي على نواة محتوية على حبيبات كروماتينية وغير منتظمة ، ويظهر هذا الطفيل حركة نشطة موجهة .

لم يشاهد طور الحوصلة لهذا الطفيل أبداً ، ولذلك لا يوجد أي تطور لهذا الطفيل والطور المعدي هو الطور النشط (التكاثري) Trophozoite .

الإصابة Pathogenicity

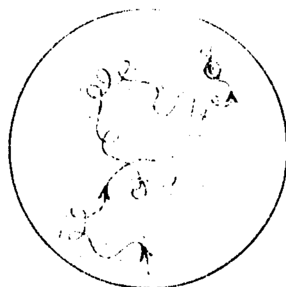
يعتبر هذا الطفيل من أكثر الطفيليات شيوعاً في تسبب اضطرابات معوية للإنسان حيث إنه لا يوجد إلا في البراز السائل الناتج عن حالة الإسهال .

لا يغزو هذا الطفيل الغشاء المخاطي للأمعاء رغم وجوده في الأنسجة عند أخذ عينة من النسيج الميت . وحتى الآن لا توجد دلائل مقنعة بأن هذا الطفيل ضار لجسم الإنسان ويؤدي إلى اضطرابات معوية ، ولكن مجرد وجوده يدل على ظرف صحي غير طبيعي يحتاج إلى عناية .

في العادة لا ينتقل هذا الطفيل إلى المهبل ولا يسبب له إصابة ، ولكن يمكن أن يلوث الفتحة التناسلية والبولية من جراء تنظيف المنطقة ، ويتداخل الأمر في تشخيصه .

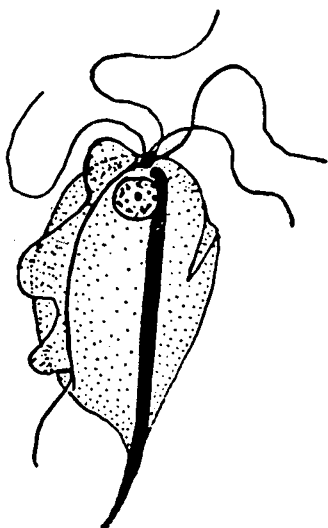
التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

تحضر شريحة من عينة البراز باستخدام «المحلول الملحي» بطريقة التحضير الرطب ، وتشاهد تحت المجهر .



طريقة الحركة

طفيل الـ *T. hominis*



Trichomonans vaginalis

الشكل Morphology :

يوجد هذا الطفيل فقط في طور النشاط وهو كبير نسبياً وحجمه أكبر من *T. hominis* ، ويختلف هذا الطفيل شكلياً ومصلياً ووظيفياً عن *T. hominis* الذي

يصيب الأمعاء . شكله كمثري ويحتوي على 3-5 أسواط مع سوط يسير بمحاذاة غشاء الخلية ، ويحتوي على نواة كبيرة الحجم في المقدمة العريضة الدائرية ، ويتحرك بنشاط وبشكل موجه . يبقى نشيطاً لعدة ساعات بعد جمع العينة المصابة حيث يظهر حركة كاذبة ويظهر غشاء لسيتوبلازم وكأنه يحتوي على أرجل كاذبة .

الإصابة **Pathogenicity** :

يقطن هذا الطفيل في المهبل وغدة البروستاتا ويتغذى في الأنثى على الغشاء المخاطي للمهبل حيث يبتلع البكتيريا والخلايا الدموية الحمراء . يفضل أحياناً الأوساط القاعدية الخفيفة وفي أحيان أخرى يفضل الأجواء الحامضية التي تزيد عن حامضية المهبل الطبيعي قليلاً .

في غياب طور الحوصلة فإنه من الضروري أن ينتقل الطفيل إلى الإنسان السليم وهو في طور الحركة ، وينتقل من المصاب إلى السليم من خلال اللقاء الجنسي وهذا تقرير تم إعطاؤه من قبل اختصاصي النسائية والتوليد وعلم الأحياء الدقيقة .

يظهر هذا الطفيل في النساء اللواتي تتراوح أعمارهن بين 30 – 49 عاماً وقليل ما يظهر في الشابات والبالغات .

تعتبر الأنثى المصابة هي المستودع المرضي ، ويعتبر الرجل هو الناقل من امرأة إلى أخرى ، يؤدي وجود الطفيل في المهبل إلى تكاثره بسرعة وازدياد في عدد الخلايا البيضاء كنوع من حماية الجسم لهذا الغزو ، ولذلك يتواجد الطفيل والخلايا البيضاء بأعداد كبيرة في الإفرازات المهبلية والتي تتلون بالأخضر أو الأصفر ولا تغطي جميع المهبل والغشاء المخاطي بما في ذلك الفتحة البولية .

عندما تصبح الحالة مزمنة تقل الإفـرازات مثيرة التقيـح بسـبب قلـة عـدد الخلايـا البيضاء وأعداد الطفيل في الإفرازات المهبلية .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

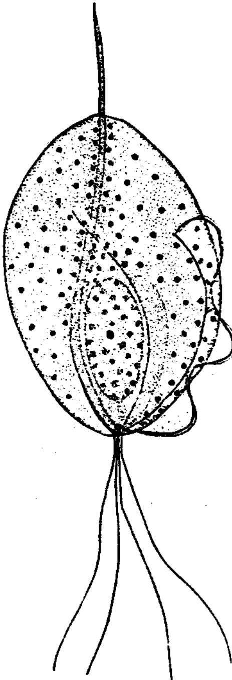
لتشخيص حالة الإصابة بهذا الطفيل يمكن جمع العينات التالية من الأنثى :

1. الإفرازات المهبلية .
2. كشطات مهبلية .

ومن الذكر :

1. البول .
2. إفرازات البروستاتا .

يتم تشخيص الإصابة بتحضير شرائح بطريقة التحضير الرطـب مـع محلـول ملحـي للعينات المذكورة أعلاه ومشاهدتها تحت المجهر .



Trichomonas vaginalis.

: *Trichomonas tenax*

الشكل Morphology :

يشبه شكل الطفيل شكل حبة الكمثرى ، وحجمه أصغر من حجم كل من *T. hominis* و *T. vaginalis* ، ويحتوي على أربعة أسواط من ناحية الرأس ، وتكون عادة متساوية في الطول . والخامس يكون موازياً للجدار الكاذب . يحتوي هذا الطفيل على نواة كبيرة نسبياً ، وتحتوي على عدد كبير من الأجسام الكروماتينية . يتواجد هذا الطفيل في طور النشاط فقط ، ولا يوجد في طور الحوصلة .

الإصابة Pathogenicity :

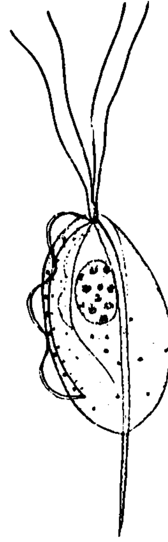
يقطن هذا الطفيل في فم الإنسان ، ويتغذى على ما يسمى بالقلاح **(Tartar)** ، وهي عبارة عن طبقة تتلون بالأخضر المصفر وتتكون على الأسنان نتيجة لعدم العناية بنظافة الفم والأسنان . وتكون هذه الطبقة عبارة عن خليط من الكائنات الحية الدقيقة وإفرازاتها الموجودة بشكل طبيعي في الفم وعادة تكون متصلبة .

ينتقل هذا الطفيل من شخص إلى آخر عن طريق التعرض لرذاذ الفم من إنسان مصاب إلى آخر غير مصاب أو بالتقبيل أو استعمال الأواني ، أو الأدوات المستخدمة في الشراب والطعام .

تتراوح نسبة الإصابة من صفر - 25٪ وتعتبر من المقاومات للتغير في درجات الحرارة وتستطيع العيش لعدة ساعات في مياه الشرب .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يمكن تشخيص حالة الإصابة بأخذ عينة من طبقة القلاح من على الأسنان وعمل شريحة بطريقة التحضير الرطب مع محلول ملحي . للوقاية يجب العناية بنظافة الأسنان والفم بشكل جيد .



Trichomonas tenax

Giardia lamblia

أول من اكتشف هذا الطفيل ليفينهوك عام 1681م حيث وجده في برازه بينما أول من ميزه ووصفه هو العالم Lambl عام 1859م حيث سماه Intestinalis وفي عام 1915م سمي هذا الطفيل باسم *Giardia lamblia* تظهر الإصابة كثيراً في الأطفال بنسبة أعلى من البالغين وأكثر شيوعاً في المناطق الحارة منها في المناطق الباردة .

الشكل Morphology :

يوجد هذا الطفيل في طورين الحوصلة والنشاط . ويتصف طور الحوصلة بالشكل البيضاوي ، ويحتوي السيتوبلازم على حبيبات ناعمة وتحتوي الحوصلة حديثة التكون على نواتين والناضجة على أربع أنوية .

أما الطور النشط (التكاثري) فيتصف بشكله الذي يشبه حبة الكمثرى ، ويتميز بنهايتين واحدة دائرية عريضة وأخرى مدببة حادة . وتحتوي على زوج من الأنوية من الناحية الأمامية للطفيل وتحتوي على كاريوسوم مركزي وتكون مستديرة الشكل .

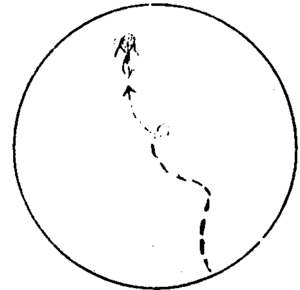
ويوجد خط في وسط الخلية حيث تتفرع منه عدة أزواج من الأسواط وعلى النحو التالي ، زوج من الناحية الأمامية وزوج من الناحية الخلفية ، وزوجان من الناحية الوسطى . يظهر طور الحوصلة في البراز اللين والصلب والطور النشط في البراز السائل .

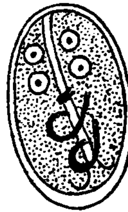
الإصابة pathogenicity :

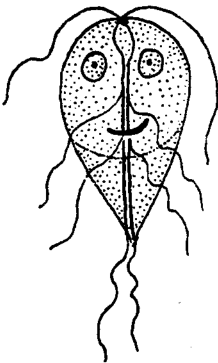
الطور المعدي في الطفيل هو طور الحوصلة ولذلك تحدث الإصابة من جراء تناول طعام أو شراب ملوثين بهذه الحوصلات حيث تتحول إلى الطور (التكاثري) في الأمعاء ويبدأ هذا الطور بالظهور حيث يؤدي انتشاره إلى ظهور الأعراض . لا يغزو الطفيل أنسجة الأمعاء وإنما يتغذى على الإفرازات المخاطية في الأمعاء . وتحدث في كثير من الحالات إثارات للأثني عشر حيث تزداد إفرازات المخاط ويظهر الإسهال وينتج عن ذلك جفاف مصحوب بألم في فم المعدة وكذلك تكون حالة الإسهال الشديدة مصحوبة بوجود المخاط وعادة لا يوجد دم في البراز ويحدث هبوط في الوزن إذا استمرت حالة الإسهال والجفاف ويحدث فقدان للشهية ويمكن أن تغلق فتحات الامتصاص مما يؤدي إلى فقدان الدهون في البراز .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

جمع عينة براز وعمل تحضير رطب باستخدام المحلول الملحي ومحلول اليود ومشاهدة الطفيل سواء في طور الحوصلة أو الطور النشط .


طريقة الحركة


الحوصلة


الطور النشط

طفيل *G. lamblia*

الهدبيات المعوية Intestinal ciliata

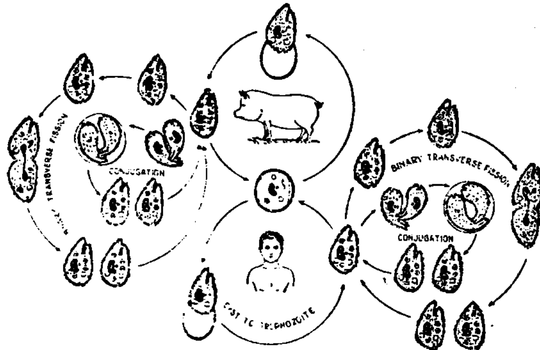
Balantidium coli

الشكل Morphology :

يعتبر هذا الطفيل أكبر الأوليات حجماً والموجودة في الإنسان . يحتوي هذا الطفيل على طورين هما طور الحوصلة والطور النشط . يظهر الأول كالعادة في البراز الصلب واللين والثاني يظهر في البراز السائل .

يظهر الطور النشط على شكل بيضاوي ويغطيه من الخارج عدد كبير من الأهداب الرفيعة والقصيرة المنتظمة الطول حيث تساعد الطفيل على الحركة الثابتة ودفعها بشدة إلى الأمام أما النهاية الخلفية فتكون دائرية عريضة . يتزواح طول الطفيل في هذا الطور من 50 – 100 ميكرون وعرضه من 40 – 70 ميكروناً . يحتوي السيتوبلازم على فجوات غذائية كثيرة ، ويحتوي على نواتين واحدة كبيرة تشبه حبة الفاصوليا والثانية صغيرة دائرية الشكل.

أما في طور الحوصلة فيظهر الطفيل دائري الشكل يحتوي على عدد من الفجوات الغذائية وحبيبات السيتوبلازم ويحتوي كذلك على نواتين واحدة كبيرة تشبه في شكلها حبة الفاصولياء والثانية صغيرة دائرية ، وتكون الخلية في هذا الطور محاطة بجدار سميك شفاف مكون من طبقتين . يبلغ حجم هذا الطور 50 – 60 مايكروناً .



دورة الحياة في الخنزير والإنسان

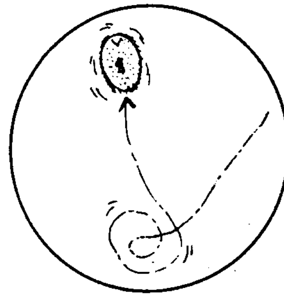
الإصابة Pathogenicity

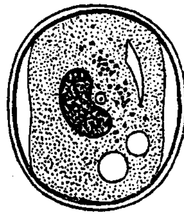
يقطن هذا الطفيل في الأمعاء الغليظة للإنسان والقرود والخنازير حيث يتغذى على جدار الأمعاء ويتحول بعد ذلك إلى الطور النشط حيث يتكاثر الأخير بالانقسام الانشطاري الثنائي وتبدأ بعد ذلك الأعراض بالظهور . يغزو الطفيل الأنسجة المعوية وينتقل من الأمعاء الدقيقة إلى الأمعاء الغليظة . تشبه أعراض الإصابة هذه أعراض الإصابة بالزحار الأميبي التي تسببها الـ *E. histolytica* ، حيث تظهر الإصابة حالة الإسهال الشديد وفقدان المخاط والدم وتتكون قرحة في جدار الأمعاء الداخلي لا تختلف عن قرحة الزحار الأميبي حيث تم مشاهدة الطفيل في الأنسجة يمكن أن يمتد موت النسيج إلى الغشاء المخاطي والغلاف شبه المخاطي وفي بعض الأحيان إلى الغلاف العضلي للأمعاء . لم يغز هذا الطفيل أعضاء أخرى في الجسم مثل الكبد .

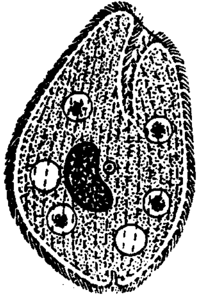
تتصف القرحة المعوية بأنها مستديرة الشكل غير منتظمة الجدار وتغطى بالقيح والخلايا الميتة ، وتحتوي هذه التقرحات على مواد مخاطية مليئة بـ *B. coli* .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

تحضير شرائح بطريقة التحضير المباشر وذلك باستخدام محلول ملحي ومحلول اليود ومشاهدة ذلك تحت المجهر .


طريقة الحركة


الحوصلة


الطور النشط

السوطيات النسيجية والدموية Blood and tissue flagellates

1. التربنوسوما Trypanosoma
2. الليشمانيا Leishmania

1. التربنوسوما Trypanosoma

يتبع لهذا الجنس عدد من الأنواع منها ما هو ضار للإنسان ومنها ما هو غير ضار له ، هذه الأنواع هي :

أ- *T. brucei* ، حيث يتبع لهذا النوع أشباه الأنواع (Subspecies) ، وهي :

1. *T. gambiense*
2. *T. rhodesiense*

وتسبب هذه الطفيليات مرض النوم الإفريقي (African Sleeping Sickness)

ب- *T. cruzi* والذي يسبب تربنوسوما جنوب أمريكا والملقب بمرض جاكاز (chaga's disease) .

T. brucei

الشكل Morphology :

تتواجد الـ *T. brucei* في عائل الفقاريات على شكل Trypomastigote ، ويتميز هذا الطور بأنه طولي الشكل ومنبسط ومغزلي إلى حد ما ، ذو نهاية خلفية غير حادة ونهاية أمامية مدببة .

وتكون النواة كبيرة بيضاوية ومركزية الموقع . ويبدأ نشوء السوط من النهاية الخلفية وتنحني حول جسم الطفيل على شكل غشاء متعرج ، ويستمر تحت النهاية الأمامية كسوط حر . ويعتبر الطفيل في هذا الطور نشيط الحركة .

يظهر هذا الطفيل ظاهرة تعدد الأشكال (Pleomorphism) في طور (Trypomastigote) حيث تتغير الخلية الواحدة في الحجم والشكل باختلاف المرحلة التي توجد فيها .

يمكن أن يتواجد الطفيل في طورين متميزين : واحد قصير سميك وبدين ولا يحتوي على سوط حر ، أو أنه يحتوي على سوط صغير جداً . والشكل الآخر طويل أسطواني ويحتوي على سوط طويل حر ، بين هذين الشكلين يمكن مشاهدة شكل متوسط أحياناً .

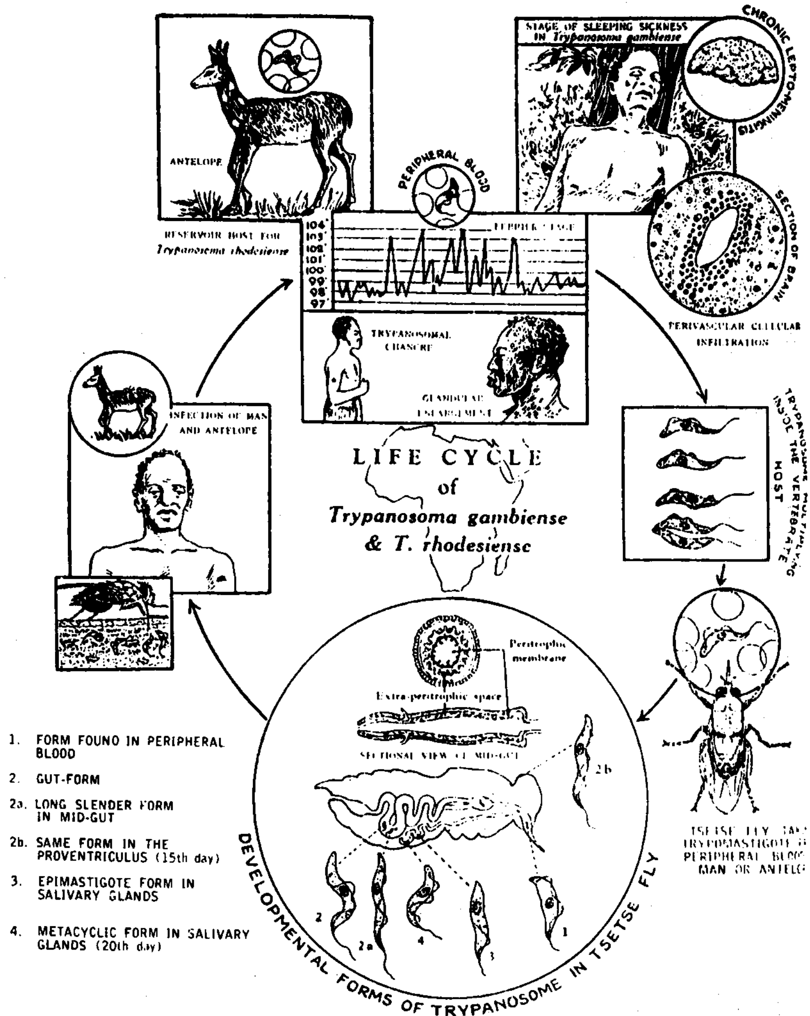
يظهر في البداية الشكل الثاني وبعد تحقق المرض يظهر الشكل الأول ، ويمكن أن يظهر الشكل المتوسط .

دورة الحياة Life Cycle :

تمر دورة حياة الـ *T. brucei* في عائلين هما :

1. العوائل الفقارية ، وهي العوائل النهائية مثل الإنسان والحيوانات .
2. العوائل الحشرية وهي العوائل الوسيطة مثل ذبابة تسي تسي Tse Tse Fly .

يتم حقن الطور المعدي للعائل النهائي وهو طور Metacyclic trypomastigote من خلال لدغة الحشرة المصابة وتتطور إلى الشكل الأسطواني الطويل ، وتنقسم بالانقسام الانشطاري الثنائي في موقع الحقن وتتحول بعد ذلك إلى الشكل البدين من خلال المرور بالشكل المتوسط ، وبالتالي يغزو الطفيل مجرى الدم وتأخذ الحشرة هذا الطور من خلال تناولها لوجبة دم ، ويخضع الطفيل لسلسلة من التطورات الحيوية المعقدة داخل الحشرة قبل أن تصبح معدية للإنسان .



1. الشكل الموجود في الدم الطرفي .

2. الشكل الموجود في الأمعاء .

2a . الشكل الأسطواني في الطويل الموجود في منتصف الأمعاء .

2b . نفس الشكل في المعدة بعد 15 يوماً .

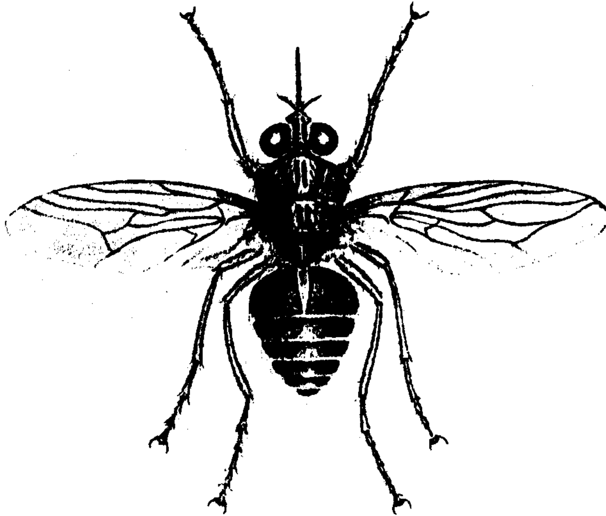
3 . طور Epimastigote في الغدد اللعابية .

4. طور Metacyclic في الغدد اللعابية بعد 20 يوماً .

التطور في العائل الوسيط :

يتم تناول الشكل البدين القصير من طور الـ Trypomastigote ، ويبدأ التغير في شكله داخل أمعاء الحشرة ، فيصير أسطوانياً طويلاً ثم يستمر في الانقسام والتكاثر لعدة أيام في جدار الأمعاء ، وبعد خمسة عشر يوماً يخرج إلى التجويف المعوي الأوسط ثم يهاجر إلى التجويف الفموي حتى يستقر في الغدد اللعابية ، وهنا يتكاثر ويتغير شكله إلى Epimastigote ثم إلى طور Metacyclic (الشكل البدين القصير من Trypomastigote) الذي يكون معدياً للإنسان .

تستغرق دورة الحياة داخل الحشرة حتى تصبح ضارة للإنسان حوالي عشرين يوماً , بينما تبقى الحشرة مصابة حتى نهاية حياتها التي تستمر عادة حوالي ستة أشهر ، ولم يثبت انتقال الإصابة إلى الأجيال الجديدة من الذباب بالوراثة .



الحشرة الناقلة لطفيل النوم الإفريقي سلالة جامبيا

الإصابة Pathogenicity

تحصل العدوى من جراء حقن الحشرة للطـور المعـدى (Metacyclic) في جسـم الإنسان عن طريق اللدغ من أجل الحصول على وجبة دم . ويدخـل الطفيـل إلى الـدم عـبر الأنسجة تحت الجلدية . يمكن لعدد من خلايا هذا الطفيل أن تصل إلى مجرى الدم مباشـرة ، لكن الأغلبية تبقى في الفراغ النسيجي حيث تتكاثر وتنمو هنـاك .وأثنـاء تكـاثر الطفيـل في فراغ الأنسجة تحت الجلدية يمكـن أن يكـون موجـوداً بـأعداد قليلـة في الـدم الطـرفي أو أن يكون غير موجود. يسبب الطفيل دماراً للأنسجة تحت الجلديـة أثنـاء وجـوده فيهـا .توجـد الإصابة بشكل رئيسي في العقد اللمفاوية والجهاز العصبي المركزي . نتيجة لدخول الطفيـل تظهر الدرنة (Chancre) في موقع الدخول ، وتتصف بأنها عقدة مؤلمة وقاسـية ، ويمكـن سحب سائل يحتوي على (Trypomastigote)نشيط الحركة .

تظهر الأعراض في النـوع الروديسي بعـد أسـبوعين مـن اللـدغ ، بينمـا في النـوع الجامبي تظهر الأعراض متأخرة قد تصل إلى عام .

يحـدث غـزو للـدم ، وتضخـم في العقـد اللمفاويـة ، وبعـد ذلـك يصـاب الجهـاز العصبي المركزي .

تتميز الأعراض بظهـور حمـى وصـداع شـديد وفقـدان القـدرة علـى النـوم الليلـي والشعور بالإحباط وفي النهاية يصبح المريض نحيفاً وفاقداً لجزء من وزنه . يحدث ارتفـاع في عدد الخلايا البيضاء (خاصة الوحيدة Monocyte) ويحدث فقر في الدم .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يتحقق ذلك من خـلال مشـاهدة (Trypomastigote) في واحـدة أو أكـثر مـن العينات التالية :

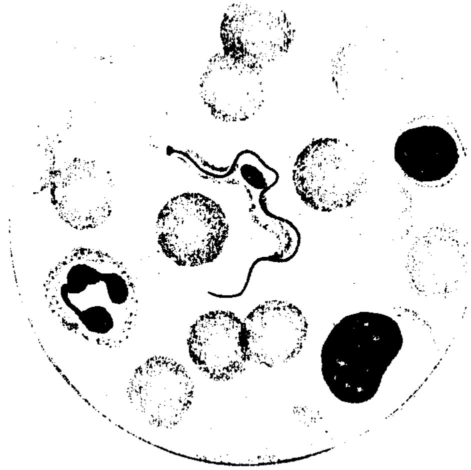
1. الدم الطرفي .
2. نخاع العظم حيث تجمع العينة من عظام القص .
3. العصارة التي تجمع من العقد اللمفاوية المتورمة.
4. سائل النخاع الشوكي .

ويمكن مشاهدة الطفيل بإحدى الطرق التالية :
1. التحضير المباشر من العينة ومن دون صبغ .
2. الزراعة .

بالنسبة للطريقة الأولى إذا كان عدد الطفيل قليلاً يمكن استخدام الفيلم السميك (Thick film) ، أو طريقة التركيز لإمكانية مشاهدة الطفيل . ويشاهد الطفيل في التحضير المباشر نشيط الحركة . وفيلم الدم يكون مفيداً بشكل ملحوظ في حالة الإصابة بالنوع الروديسي ، وليس في الأنواع الأخرى .



فيلم دم يحوي طفيل الـ *Trgpanosoma brucei "rhodesiense" strain*



فيلم دم يحوي طفيل الـ *Trypanosoma brucei ("gambiense"* strain)

الوقاية :

1. تدمير الحشرات الناقلة .
2. معالجة حالات الإصابة والقضاء على الطفيل .
3. تجنب لدغ الحشرات .

T.cruzi

الشكل Morphology :

يظهر طور Trypomastigote من فيلم الدم على شكل حرف C أو U، ويحتوى على نواة مركزية كبيرة . ويوجد شكلان لهذا الطفيل في الدم الطرفي ، الأول أسطواني طويل والثاني قصير وعريض . لا يحدث التضاعف داخل الدم الطرفي ويمكن أن تاخذ الحشرة طور Trypomastigote أو أن يدخل الطفيل الخلايا النسيجية حيث تستمر حياته على شكل Amastigote . يظهر شكل ال Amastigote في داخل خلايا العضلات المخططة في القلب ، والهيكل العظمي ، وفي الجهاز العصبي المركزي أو داخل الطلائي الشبكي . يتميز هذا الطور بأنه أجسام دائرية أو بيضاوية ويحتوي على نواة ويتكاثر الطفيل في هذا الطور فقط .

دورة الحياة Life Cycle :

تمر دورة الحياة في عائلين هما الإنسان كعائل نهائي وحشرة الـ Reduviid bug كعائل وسيط.

يتطور الطفيل داخل الحشرة بعد أن تأخذه على شكل Trypomastigote من الإنسان عن طريق اللدغ ويتحول في معدتها إلى Amastigote ويتكاثر بالانقسام الانشطاري ، ويتحول إلى Epimastigote ثم يعود ويتكاثر بالانقسام الطولي وخلال 8 – 10 أيام يتكون شكل Metacyclic trypomastigote الذي يخرج مع براز الحشرة . وينتقل الطفيل إلى الإنسان إما عن طريق الفضلات التي تدخل إلى الجرح الذي سببته اللدغة ، وإمّا بملامسة الإصبع لملتحمة العين أو الغشاء المخاطي لمناطق أخرى .

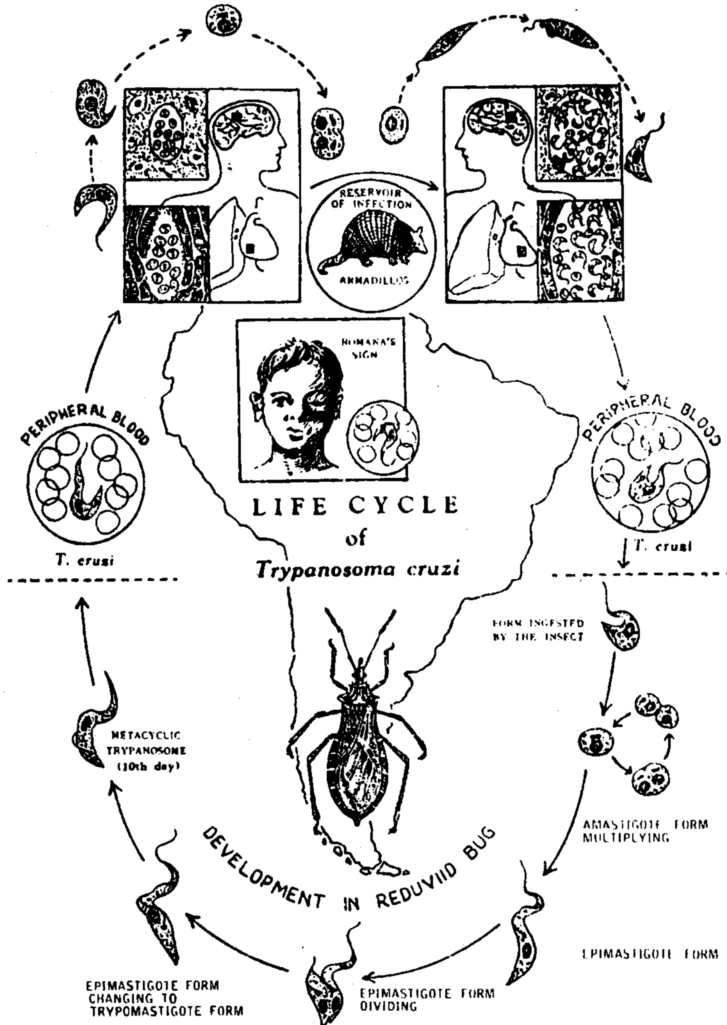
يدخل شكل Metacyclic trypomastigote إلى الأنسجة ويتحول إلى Amastigote ويتكاثر بالانقسام الانشطاري، ويتحول إلى Promastigote وEpimastigote ثم يتحول إلى Trypomastigote ويدخل في الدم .

الإصابة Pathogenicity :

الحالة الحادة :

وتظهر في الأطفال وتتميز بالحمى والتهاب ملتحمة العين وانتفاخات في الوجه وتضخم في الطحال والعقد اللمفاوية ، وفقر في الدم وزيادة في الخلايا اللمفاوية وتنتهي بهبوط القلب والتهاب السحايا ثم الموت .

أما الحالة المزمنة فتظهر في البالغين والمراهقين وتتميز باضطرابات في دقات القلب وأعراض عصبية .



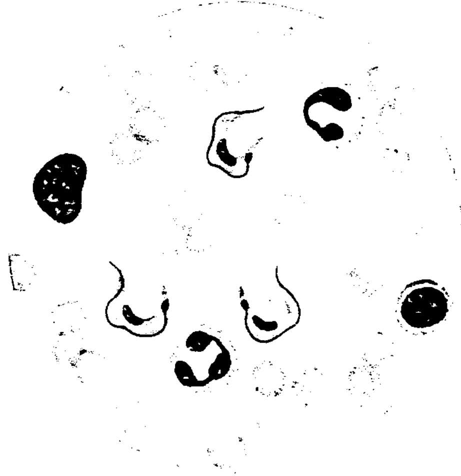
دور حياة مسبب مرض جاكاز

التشخيص المخبري :

1. عمل فيلم للدم وصبغه ومشاهدته تحت المجهر للبحث عن الطفيل .
2. استعمال الفحوصات المصلية مثل تجربة تثبيت المكمل (C. F. T.) للكشف عن الأجسام المضادة .
3. عمل فحص نسيجي من العقد اللمفاوية أو العضلات حيث تحتوي على طور الـ Amastigote .

الوقاية :

1. معالجة حالات الإصابة .
2. القضاء على الحشرات .
3. تجنب لدغ الحشرات .



فيلم دم يحوي طفيل الـ *Trypanosoma cruzi*

2- الليشمانيا Leishmania

1. Leishmania donovani.

2. Leishmania tropica.

3. Leishmania braziliansis.

يسبب هذا الطفيل مرضاً يسمى الليشمانيا Leishmaniasis وتكثر الإصابة هذه في الأماكن التي ينتشر فيها ذباب الرمل Sand Fly الحشرة الناقلة للمرض . وتكثر في إفريقيا وأجزاء من أمريكا اللاتينية وآسيا وأوروبا .

الشكل Morphology :

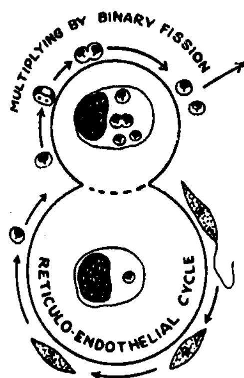
يظهر هذا الطفيل في طورين هما :

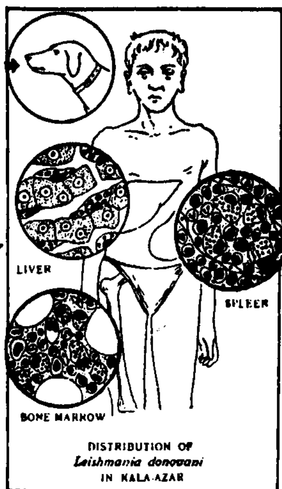
1- الطور غير السوطي Leishmania أو Amastigote أو Aflagellar

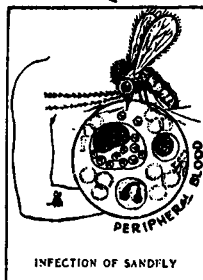
ويظهر في الإنسان والثدييات الأخرى . ويتميز بظهوره على شكل أجسام بيضاوية أو مستديرة بحجم يتراوح بين 2 - 3 ميكرون ويكون داخل الخلايا الدموية البيضاء الوحيدة (Monocytes) ، وكذلك داخل الخلايا عديدة تشكل النواة Polymorphonuclear Leucocytes وتوجد داخل الخلايا الطلائية . وعند تحضير فيلم من الدم أو من عينة أخرى وصبغها بصبغة جيمسا Geimsa أو رايت Wright يظهر السيتوبلازم بلون أزرق شاحب وبداخله نواة كبيرة نسبياً تأخذ اللون الأحمر ، ويوجد بجانبها أجسام عصوية لونها أحمر داكن أو بنفسجي .

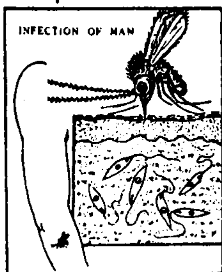
2- الطور السوطي Leptomonad أو Promastigote أو Flagellar

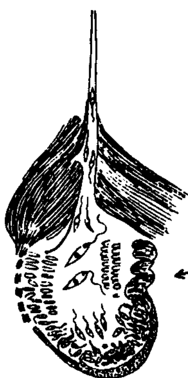
ويظهر في ذبابة الرمل وفي الزراعة . ويتميز باحتوائه على سوط واحد ، ويتصف بحركة سريعة ، ويكون حجمه أكبر ، حيث يبلغ طوله حوالي 15 - 25 ميكروناً وعرضه 1.5 - 3.5 ميكرون . ويكون شكله بيضاوياً أو مثل الإجاصة في البداية ويتحول إلى أسطواني طويل ويحتوي على نواة مركزية .

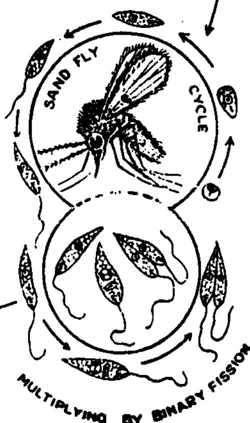












LIFE CYCLE
of
Leishmania donovani

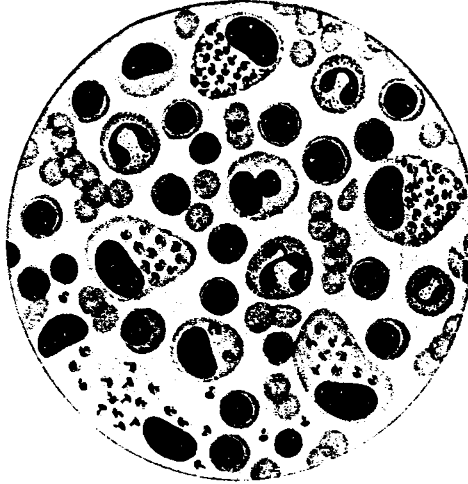
دورة الحياة Life Cycle :

يمر الطفيل في طورين خلال دورة حياته هما :

1- طور الليشمانيا Amastigote :

ويظهر في الإنسان ، وفي بعض المناطق من العالم يظهر الطفيل في الحيوانات مثل الكلاب حيث يقطن هذا الطفيل في خلايا الجهاز الطلائي الشبكي ، ويتكاثر بالانقسام

الانشطاري داخل خلايا العائل ، ويستمر التضاعف حتى تمتلئ خلية العائل بالطفيل . وبذلك تتضخم خلية العائل ، وفي النهاية تنفجر ، ويخرج منها 50 – 200 خلية من خلايا الطفيل . ويتحرر الطفيل نتيجة لانفجار خلية العائل ويصل الطفيل إلى الدورة الدموية ، ويعود يهاجم خلية جديدة من خلايا العائل ، أو إن الخلية هي التي تبتلع الطفيل ، وهكذا تتكرر العملية ويزداد عدد الطفيل داخل جسم العائل .



الطور اللاسوطي



الطور السوطي

وبهذه الطريقة فإن الطفيل يصل إلى مجرى الدم ، ويحاط بالخلية البيضاء المتعادلة أو الوحيدة ، ويأتي ذباب الرمل ليتناول وجبة غذاء من دم المريض ، فتنتقل الطفيليات إلى ذباب الرمل ليصبح مصاباً ، وتبدأ دورة جديدة من حياة الطفيل .

وفي هذه المرحلة يتحول الطفيل من الطور غير السوطي إلى الطور السوطي ، ويتكاثر بالانقسام الانشطاري ، ويتم ذلك في أمعاء ذباب الرمل ، وتميل الطفيليات السوطية إلى الانتشار أماماً باتجاه البلعوم ، وهكذا فإن إصابة الإنسان تتم من خلال لدغ الذباب المصاب لإنسان سليم . وبالمناسبة فإن الغدد اللعابية لا تصاب بهذا الطفيل .

الإصابة Pathogenicity :

أ- بسبب *L. donovani* : تحدث الإصابة في الإنسان من جراء دخول الطفيل في الطور السوطي إلى داخل جسمه من خلال لدغ الذباب المصاب ، ويدخل الطفيل ويستقر في أنسجة الجهاز الطلائي الشبكي وبخاصة الكبد والطحال ونخاع العظم والغشاء المخاطي للأمعاء والعقد اللمفاوية ، ويمكن أن يتواجد في الخلايا الطلائية في الكلية والرئتين والسحايا وسائل النخاع الشوكي . ويبتلع الطفيل من قبل الخلايا الابتلاعية البيضاء وبداخلها يتم التحول من الطور السوطي إلى الطور غير السوطى ، وكذلك يحدث بداخلها الانقسام والتكاثر والانتشار .

يحدث ارتفاع في عدد الخلايا البيضاء خاصة Monocytes . تظهر على المريض أعراض منها ارتفاع في درجة الحرارة ، ويمكن أن تستمر ، ثم تصبح متقطعة في الارتفاع والانخفاض ، ثم تضخم في الطحال والكبد ولكن تضخم الكبد يكون بنسبة أقل من الطحال . وتظهر على المريض أعراض عامة منها عدم القلق والراحة وعدم الخوف من الحمى ، ويتمتع المريض بشهية جيدة ولسان رطب نظيف. ثم يتطور المرض ليظهر فقراً في الدم، ويتميز الجلد بالجفاف والخشونة ، ويتلون بالسواد ويحدث جفاف في الشعر ، ويبدأ بالتساقط وتحدث الوفاة بنسبة 75 – 95٪ في حالة عدم العلاج .

تسمى الأصابة بهذا النوع بعدة أسماء هي : الليشمانيا الحشوية Visceral Ieishmaniasis ، ويسمى كذلك الكالا ازار Kala - azar ، وحمى الموت وحمى دم دم Dum - Dum fever ، وتضخم الطحال المداري .

ب- بسبب *L. tropica* : يتكاثر الطفيل داخل الخلايا البيضاء كما هو في الإصابة السابقة ويظهر على المريض تقرحات جلدية مغطاة بأنسجة متحببة ، ويكون الطفيل موجوداً في العقد اللمفاوية ، وتتكاثر الحلمات على الجلد ، ويحدث موت موضعي في النسيج المصاب ، وتظهر التقرحات ويمكن ظهور التهابات جلدية ثانوية . تسمى الإصابة بهذا النوع التقرح الشرقي Oriental Sore .

جـ- بسبب *L. braziliansis* : يكثر ظهور هذا الطفيل في أمريكا اللاتينية ، ولذلك تسمى الإصابة به الليشمانيا الأمريكية .

تكون منطقة الإصابة مقصورة على الجلد والأغشية المخاطية للأنف والفم والبلعوم ، ولا تصيب الأحشاء مثلها مثل مسببة التقرح الشرقي .

تظهر بثور نتيجة لهذه الإصابة وتتحول البثور إلى حوصلات حمراء مصحوبة بحكة ، وبعد ذلك بحوالي 1 – 4 أسابيع يبدأ التقرح بالظهور ، حيث يصبح محيط القرحة بيضاوياً أو دائري الشكل .

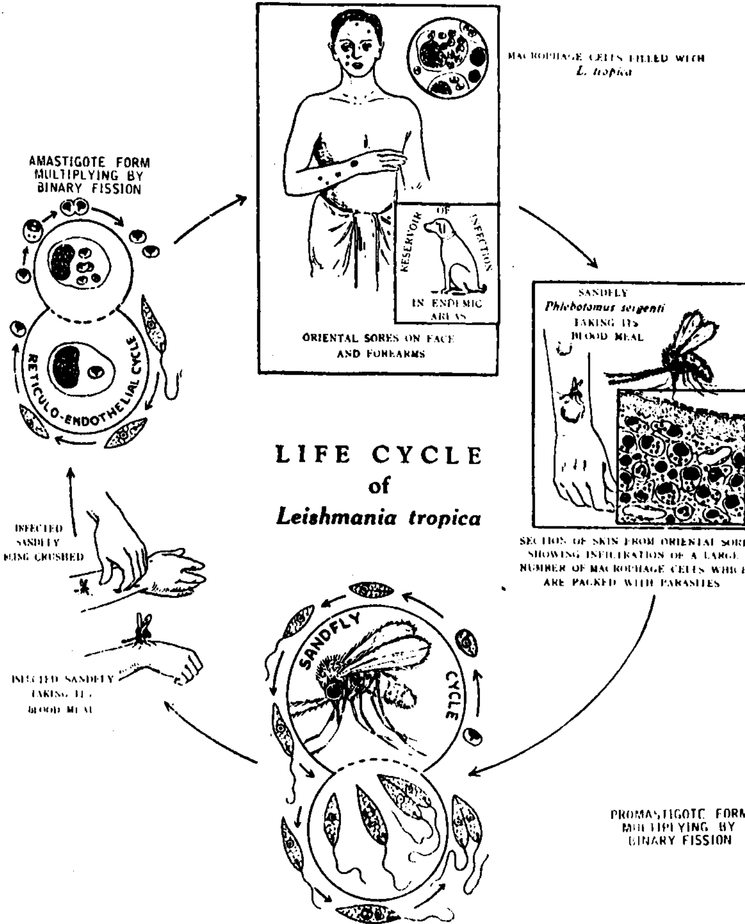
التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يمكن جمع عينات من أماكن الإصابة وحسب نوع الحالة ، ففي الحالة الأولى يمكن جمع عينة من الدم الطرفي ، وعينة نسيجية من الطحال والكبد وعينة من عصارة العقد اللمفاوية وإفرازات الأنف والنخاع العظمي القصي ، وفي الحالة الثانية تجمع عينة من

القرحة بعد ثقبها من الطرف أو من البثور ، وكذلك الحال من الإصابة الثالثة . في جميع حالات الإصابة هذه تحضر أفلام على شرائح زجاجية ، وتصبغ بصبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا ، وتشاهد تحت المجهر ، ويمكن زراعة تلك العينات على :

(N. N. N.) Novy , MacNeal and Nicolle's media

مع إضافة 2000 – 2500 وحدة بنسلين لمنع نمو البكتيريا .



الوقاية :

معالجة حالات الإصابة والقضاء على ذبابة الرمل وتجنب لدغه .

البوغيات النسيجية والدموية
Blood and Tissue Sporozoa

Toxoplasma gondii -1

الشكل Morphology :

يظهر هذا الطفيل في الإنسان والثدييات والطيور على شكلين هما الحوصلة الكاذبة Pseudocyst ، وهي المرحلة التكاثرية وحوصلة الأنسجة Tissue Cyst .

أ. حوصلة الأنسجة (خارج خلوي Extra - Cellular) :

يمكن أن يتواجد حراً في سائل الأنسجة ، وقد وجد في أغلب الأحيان مطموراً في الجهاز العصبي المركزي والعضلات ، ومحاطاً بغشاء مشكلاً جداراً لحوصلة الأنسجة . تتميز الخلايا داخل الحوصلة (Cystozoite) بالشكل الأسطواني الهلالي مع نهاية دائرية وأخرى مدببة . وتحتوي على نواة تقع في النهاية الدائرية .

ب. الحوصلة الكاذبة (داخل خلوي Intra - Cellular) :

توجد داخل خلايا الجهاز الطلائي الشبكي والخلايا المتعددة الأنوية . تتصف هذه الخلايا الطفيلية Endozoite بشكلها الهلالي ، وربما البيضاوي ، وتكون النواة مركزية الموقع .

دورة الحياة Life cycle :

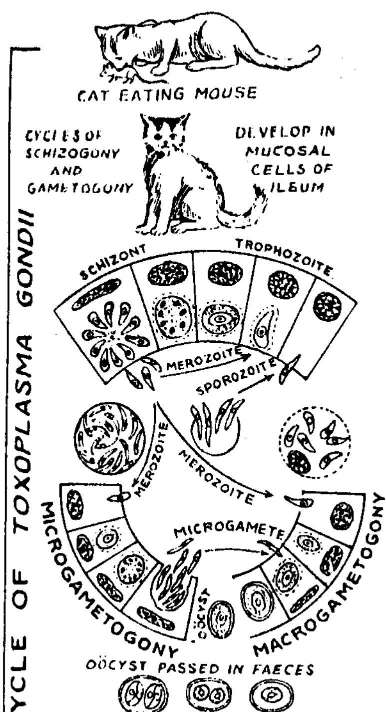
يمر هذا الطفيل في دورتين هما :

1- الدورة الداخلية :

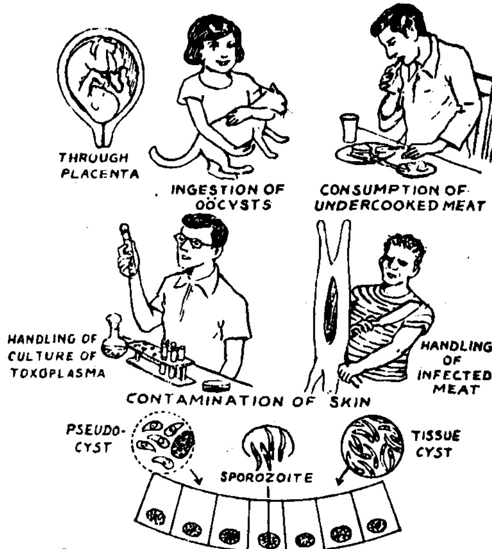
وتشتمل على مرحلتين هما Schizogonic و Gametogonic ، ويحدث هذا في أمعاء القطط الأليفة التي تتغذى على دماغ الفئران المحتوية على الحوصلات ، وتتكون أعداد كبيرة من Oocysts ، ويظهر الطوران السالفان في الأمعاء وبالذات في الخملات ، وتتطور عادة في الجزء الثالث من الأمعاء الدقيقة Ileum ، ويمكن أن تتأثر جميع أجزاء الأمعاء بالإصابة .

ENTERIC CYCLE
IN HOMOLOGOUS HOST (CAT)

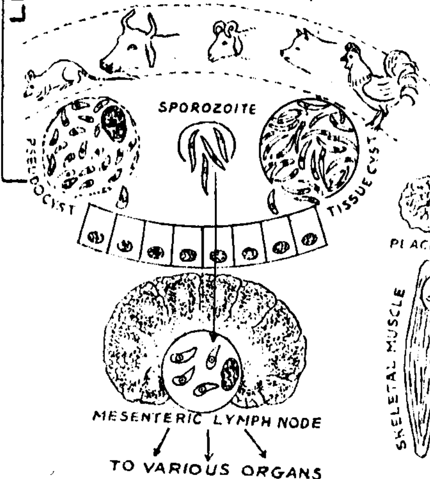
EXOENTERIC CYCLE
IN HETEROLOGOUS HOST (MAN)

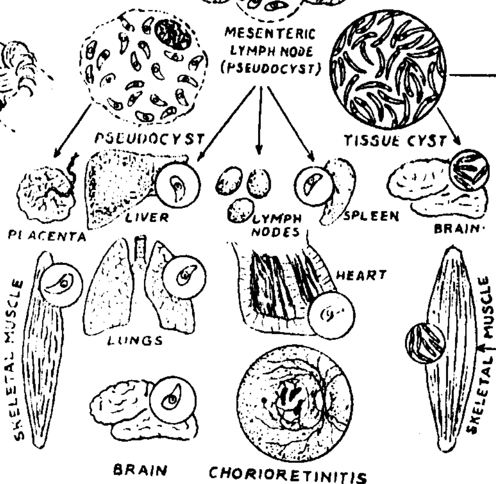


POSSIBLE MODES OF INFECTION



EXOENTERIC CYCLE
IN HETEROLOGOUS HOST
(ANIMALS OTHER THAN CAT)





دورة الحياة

2- الدورة الخارجية :

وتشتمل على Oocysts التي تحتوي على اثنين من (Sporocyst) والتي تخرج من براز القطط ولمدة أسبوع إلى أسبوعين خلال 1 - 5 أيام يبدأ النضوج بحيث تتطور الـ Sporocyst إلى أربع Sporozoites ، وهذه الأخيرة تصبح ضارة للإنسان وبعض الحيوانات الأخرى مثل الثدييات والطيور . بعد تناول الـ (Oocysts) ، يحدث تحرر للـ Sporozoites بحيث تخترق الأخيرة خلايا الغشاء المخاطي للأمعاء ، وتحمل بوساطة الدم والسائل اللمفاوي إلى العقد اللمفاوية في الأمعاء ثم إلى المناطق البعيدة في الجسم مثل الدماغ والعيون والكبد والطحال والعقد اللمفاوية والقلب والعضلات الهيكلية ومشيمة الرحم الحامل . وفي جميع هذه الأماكن تتكون الحوصلات الكاذبة Pseudocyst ، ويسمى الطفيل داخل الحوصلة بـ Endozoite حيث تكون النواة مركزية الموقع وتتحرر الأخيرة وتخرج خارج الخلايا للتكاثر . حيث تتكاثر بالتبرعم الداخلي وتعتبر الحوصلات الكاذبة مرحلة للانقسام والتكاثر لهذا الطفيل ، وهي المسئولة عن تدمير النسيج الذي تتكاثر فيه .

ويمكن أن تنتقل هذه الحوصلات من إنسان إلى آخر أو من حيوان إلى آخر عن طريق أكل لحوم الحيوانات المصابة والمتشابهة ، أي الحيوان الذي يأكل حيواناً من نفس نوعه وجنسه .

الإصابة Pathgenicity :

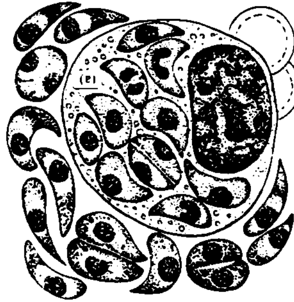
يمكن دخول الطفيل إلى الإنسان عبر الطرق التالية :

أ. من الام إلى الجنين عبر المشيمة : من الممكن أن تكون الأعراض غير ظاهرة على الأم أو قد تكون ظاهرة ، وينتج عن ذلك إما الإجهاض أو أن يولد الجنين مصاباً . ويحدث هذا في الأشهر الأولى من الحمل ، أما إذا كانت الإصابة في الأشهر المتأخرة فلا يظهر

على الجنين أية أعراض ، وتبدأ الإصابة بالتطور بين الشهر الثاني والثالث بعد الـولادة . وإذا كانت الأم مصابة في فترة الرضاعة ، فـإن الطفيـل ينتقـل إلى الطفـل الرضيـع مـن خلال الحليب .

ب. اكتساب : وفي هذه الحالة تحصل الإصابة في الأطفال والبالغين ويمكن دخـول الطفيـل إلى الإنسان عن طريق :

1. تناول اللحم المحتوي على الحوصلة الكاذبة (Pseudocyst) أو تناول حليـب البقـر أو البيض (وجدت الحوصلة الكاذبة في مبيض الدجاجة) ، وتحصل العدوى من جراء تناول الـ (Oocyst) التي تخرج مع فضلات القطط .
2. التنفس : من خلال رذاذ المصاب بهذا الطفيل في الجهاز التنفسي .
3. الحقن : عبر الجلد من خلال الاتصال بأنسجة الحيوانات المصابة حيث يدخل الطفيل من مناطق تشقق الجلد .



شكل الطفيل تحت المجهر

في العادة لا تتـم ملاحظـة دخـول الإصابـة إلى الإنسـان لكـن تتجمـع الطفيليـات في مجـرى الـدم ، وأخـيراً تسـتقر في مختلـف الأعضـاء مثـل الدمـاغ ، والحبـل الشـوكي ، والعيون ، والرئتين ، والكبد ، والطحال ، ونخاع العظم ، والعقـد اللمفاويـة ، والعضـلات القلبية ، والعضلات الهيكلية .

يتيمز موقع الإصابة بموت نسيجي محاط بالخلايا الالتهابية مثل الوحيدة واللمفاوية ، ويتواجد الطفيل بأعداد كبيرة داخل الخلايا مما يؤدي إلى انتفاخها وتكوين ما يسمى بالحوصلة الكاذبة. تختلف الأعراض الناتجة عن هذه الإصابة باختلاف موقع الإصابة ، فمثلاً :

1. في الجهاز العصبي المركزي : تتميز الإصابة بالتهاب في غشاء الدماغ واستسقاء المنطقة المصابة وتكلس .
2. في الأوعية اللمفاوية : تظهر حمى والتهاب عام في الغدد اللمفاوية وبخاصة في الرقبة .
3. في الجلد : تظهر بقع مع بثور .
4. في الرئتين : تظهر أعراض التهاب الرئة الداخلية .
5. في القلب : التهاب في عضلات القلب وتظهر الحوصلة الكاذبة داخل الألياف العضلية .
6. في الكبد والطحال : يظهر تضخم فيهما .

تحصل بعض التغيرات في الدم حيث يرتفع عدد الخلايا البيضاء ليصل إلى 12 ألف خلية/ملم^3 من الدم ، ويحصل ارتفاع في الخلايا الوحيدة واللمفاوية وترتفع نسبة الخلايا الحامضية لتصل إلى 20٪ .

نتيجة للإصابة تظهر الأجسام المضادة من نوع **IgG** و **IgM** ، ووجود النوع الأخير في الأطفال حديثي الولادة يدل على أن الإصابة قادمة من الأم .

التشخيص المخبري **Lab. diagnosis** :

1- الأدلة المباشرة :

وتتلخص في مشاهدة الطفيل ، وهذا ليس ممكن دائماً. ويتم إنجاز ذلك كما يلي :

أ. الفحص المجهري للطخات مصبوغة من العينات المجموعة من المريض مثل نخاع العظم ووخزة من الطحال **Splenic Puncture** أو راسب سائل النخاع الشوكي ، ويمكن عمل لطخات من أنسجة حية يمكن جمعها من المريض .

ب. حقن العينات المشتبه بها في حيوانات الاختبار .

2- الأدلة غير المباشرة :

أ . فحص تثبيت المكمل (C. F. T.) : ويتم الفحص بين مصـل المريض وأنتيجين محضر من زراعة الطفيل في أجنة الدجاج .

ب. فحص الجلد : ويتم ذلك بحقن الجلد بالأنتيجين Toxoplasmin المخفف ويلاحظ تكون احمرار على الجلد بمساحة 10 ملم خلال 48 ساعة ليدل على النتيجة الإيجابية .

جـ. تجربة التخثر المباشر Direct agglutination : حيث تكشف عن تركيز الأجسام المضادة في مصل المريض .

د. تجربة يتم فيها استخدام صبغة الفلورسين وفي هذه الحالة يمكن صبغ نفس خلايا الطفيل خاصة في لطخات الأنسجة . وتستخدم هذه الصبغة في تحديد نوع وتركيز أنواع الأجسام المضادة مثل IgG أوIgM .

Plasmodium - 2

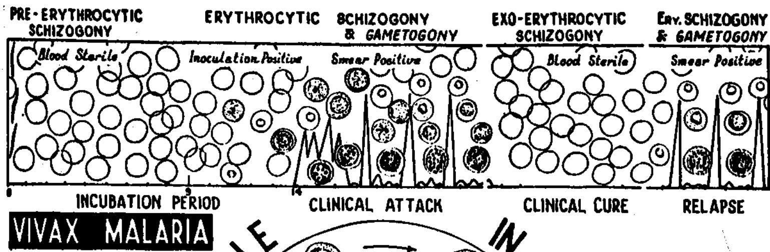
يتبع لهذا الجنس الأنواع التي تسبب مرض الملاريا بأصنافها الحميدة والخبيثة ، وهذه الأنواع هي :

a) P. malaria . *b) P. vivax .*
c) P. ovale . *d) P. falciparum .*

ينتشر مرض الملاريا في جميع بقاع الأرض ، وتكثر الـ *P. malaria* في المناطق شبه المدارية بينما تسيطر الـ *P. vivax* في المناطق المعتدلة ، وأما الـ *P. ovale* ، فقد وجد أنها منتشرة في شرق إفريقيا وغربها .

دورة الحياة : Life cycle

تمر دورة حياة طفيل الملاريا في عائلين هما الإنسان كعائل وسيط وأنثى بعوض الأنوفيل كعائل نهائي ، والأنثى وليس الذكر بسبب احتياج الأنثى لوجبة غذاء غنية مثل الدم لتفقيس ونضوج بيوضها ، ولأنها تحوى خرطوماً ثاقباً ماصاً على خلاف ذكر البعوض . وتتم الدورة كما يلي :



CYCLE IN MAN

ERYTHROCYTIC SCHIZOGONY

Schizont

Trophozoite

Merozoite

Persistence of E.E. Forms

PRE-ERYTHROCYTIC SCHIZOGONY

EXO-ERYTHROCYTIC SCHIZOGONY

GAMETOGONY

Male Gametocyte ♂

Female Gametocyte ♀

INFECTION OF MAN

INFECTION OF MOSQUITO

LIFE CYCLE of *Plasmodium vivax*

CYCLE OF SPOROGONY

COMPLETION OF GAMETOGONY

Sporozoite Formation

Öocyst Development

Maturation and Exflagellation

Öokinete

CYCLE IN MOSQUITO

دورة حياة طفيل الملاريا

في البعوض :

Gametocytes → Microgametes

Macrogametes → Zygote → Oocyst

Oocyst → Sporozoite

وهذه الأخيرة عبارة عن خلايا جرثومية منحنية مثل الخيط الصغير ونهايتها مثل الشريط . وتوجد في لعاب البعوض ، وتسمى هذه الدورة بالدورة الجنسية .

في الإنسان :

وتسمى بالدورة غير الجنسية

1) Pre - Erthrocytic Schizogony

الطور الانغلاقي قبل الدخول إلى الخلايا الحمراء (في الكبد)

في الكبد

Sporozoite → Merozoite ⟶ + Macromerozoite

+

Micromerozoite

2) Erythrocytic Schizogony الطور الانغلاقي داخل الخلايا الحمراء

تدخل إلى الخلايا الحمراء

Micromerozoite ⟶ Trophozoite → Schizont →Merozoite

ويمكن مشاهدة هذه الأنواع الثلاثة في الدم الطرفي بعد فترة وجيزة من الإصابة .

الطور الجاميتي

3) Gametogony: Trophozoite + Schizont + Merozoite → Gametocytes

وتتطور الأخيرة في الخلايا الحمراء والطحال ونخاع العظم ، ويوجد الطور الناضج منها في الدم فقط .

الطور الانغلاقي خارج الخلايا الحمراء **4) EXO - Erythrocytic Schizogoy**

يمكن أن يبقى الـ **Pre - eryth. phase** كامناً في الكبـد ، وهـذا الطـور يسـمى بـ **Exo - Eryth. Sch.** وهو مسئول عن انتكاسة الإصابة .

وتتحرر الـ **Merozoite** والـ **Micro.** والـ **Macro.** من الـ **Exo. Ery. Sch.** وتسمى مع بعضها البعض **Phanerozoites** .

من الملاحظ أن هناك منطقتين للتطور هما :

1. الكبد ، وتشتمل على **Pre & Exo - Ery. Sch.** .
2. الخلايا الحمراء وتشتمل على **Eryth. Sch. & Gametogony** .

الاصابة **Pathogenicity :**

تسبب الإصابة بالملاريا ظهور حمى متموجة ، وهـذه الحمـى صفـة للإصابة بجميـع أنواع البلازموديوم ، وتسمى الإصابات بالبلازموديوم بالأسماء التالية :

1. بسبب ***P. vivax*** تسمى الإصابة بالملاريا الثلثية الحميدة .
2. بسبب ***P. malaria*** تسمى الإصابة بالملاريا الربعية .
3. بسبب ***P. falciparum*** تسمى الإصابة بالملاريا الثلثية الخبيثة .
4. بسبب ***P. ovale*** تسمى الإصابة بالملاريا البيضاوية .

تبلغ فترة الحضانة في حالة الإصابة بـ ***P. malaria*** حوالي 18 يوماً إلى 6 أسابيع ، وفي حالة الإصابة بالأنواع الأخرى تبلغ 10 – 14 يومـاً ، وتشـمل هـذه الفـترة من لحظة حقن الإنسان بـ **Sporozoite** ودخولها إلى الكبد وتطورها ثم إلى الخلايـا الحمـراء ، وبعد ارتفاع تركيزها في الدم تبدأ أعراض الحمى بالظهور . وتبدأ الأعـراض علـى شـكل نوبـات حمية يتبعها فقر دم وتضخم في الطحال ، ويحصل تضخم في الكبـد بسـبب إغـلاق الأوعيـة الدموية وتكاثر الخلايا الطلائية الشبكية .

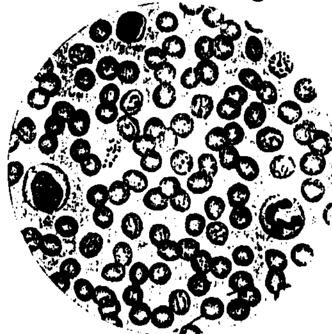
يحدث ارتفاع في عدد الخلايا البيضاء يصل إلى 10 – 20 ألف/ملم³ خلال ارتفاع درجة الحرارة ، ويعود العدد إلى الوضع الطبيعي بعد اختفاء الحمى . وعند الاختفاء التام للحمى ينخفض عدد الخلايا البيضاء حتى يصل إلى 3 – 5 آلاف/ملم³ ، ويحدث ارتفاع في نسبة الخلايا الوحيدة تصل 10 – 20٪ وقد تصل إلى 30٪ .

ويحدث فقر الدم ليس نتيجة لإحباط نخاع العظم في إنتاج الخلايا الحمراء وإنما نتيجة لتدمير الخلايا الحمراء في كل دورة من دورات تكاثر الطفيل في الدم . وأكثر الحالات يحدث فيها انخفاض في عدد الخلايا الحمراء تكون نتيجة للإصابة بـ *P. falciparum* حيث يصل عددها إلى واحد مليون خلية/ملم³ بينما يصل إلى 2–3 مليون /ملم ³ في الحالات الأخرى .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يعتبر عمل لطخات من الدم وصبغها وفحصها مخبرياً من أهم الطرق التشخيصية للإصابة بالملاريا . ففي حالة الاشتباه بالإصابة بالملاريا فإن عمل لطخة رقيقة (Thin Film) يؤدي إلى ظهور طفيل الملاريا شريطة عدم أخذ عينة الدم بعد تناول الأدوية المضادة للملاريا ، ومن النادر أن تعطي اللطخات السميكة (Thick film) نتائج إيجابية ، ولكن من الأعمال المخبرية الإيجابية عمل شريحة محتوية على لطخة دموية رقيقة وأخرى سميكة أو على شريحتين منفصلتين فيتم مشاهدة الطفيل في اللطخة السميكة ، وتحديد نوع الطفيل في اللطخة الرقيقة .

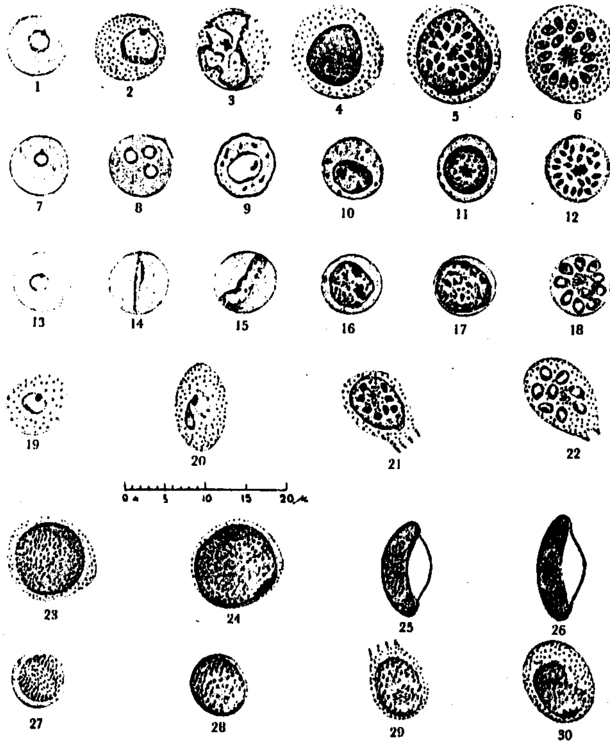
بعد تحضير اللطخات الدموية تصبغ جميعها بصبغة رايت أو جيمسا أو ليشمان وتشاهد تحت العدسة الزيتية .



طفيل *P. falciparum* في فيلم للدم ويظهر طوري الـ gametogony و Schizogony

الوقاية :

1. ردم المستنقعات لمنع توالد البعوض .
2. القضاء على البعوض باستخدام مضادات الحشرات .
3. تجنب لدغ البعوض بشتى الوسائل .
4. معالجة المصابين .



1 to 6, *P. vivax*. 1, 2, 3, trophozoites (1 early ring-form, 2 & 3 large ring-forms with Schüffner's dots, 3 amoeboid form); 4, 5, 6, schizonts—early to mature (rosette) stage.
7 to 12, *P. falciparum*. 7, 8, 9, trophozoites; 10, 11, 12, growth of a schizont (inside the capillary of internal organ); 8, showing multiple infections with form "accolé"; 9 & 10, showing Maurer's dots in the host-cell. Note the normal size of the infected cell.
13 to 18, *P. malariae*. 13, ring-form; 14, 15, band-form; 16, 17, 18, growth of a schizont. Note the normal size of the host-cell and undotted erythrocytes.
19 to 22, *P. ovale*. 19, 20, trophozoites; 21, 22, developing schizonts. Note James's dots in all the stages as also the irregular and oval shape of the enlarged host-cell.
23 to 30, mature gametocytes of *P. vivax* (23 male, 24 female), *P. falciparum* (25 male, 26 female), *P. malariae* (27 male, 28 female) and *P. ovale* (29 male, 30 female).

طفيليات الملاريا في الإنسان

مختلف الأطور داخل الخلايا الحمراء للإنسان

علم الديدان Helminthology

تعتبر الديدان من الحيوانات عديدة الخلايا Multicellular . تنقسم الديدان إلى شعبتين (Phylum) هما :

1- Platyhelminthes ، وتنقسم إلى صفين (Class) Cestoda & Trematoda .

2- Nemathelminthes وتحتوي على صف واحد هو Nematoda .

الفروق بين الثلاثة صفوف هي :

	الشريطات Cestode	المثقبيات Trematode	الخبليات Nematode
الشكل	شريطية مقسمة	غير مقسمة وتشبه ورقة النبات	طويلة أسطوانية وغير مقسمة
الجنس	خنثى	خنثى باستثناء البلهارسيا	ذكر وأنثى متطورة
نهاية الرأس	ماصة مع كلاب	ماصة من دون كلاب	غيرماصة ولاتحتوي على كلاب
القناة الهضمية	غير موجودة	موجودةوغيركاملة، من دون شرج	موجودة وكاملة مع شرج

المثقبات Trematoda of Flukes

1) Schistosoma Species :

Schistosoma haematobium يبلغ طولها (1 - 1.5 سم)

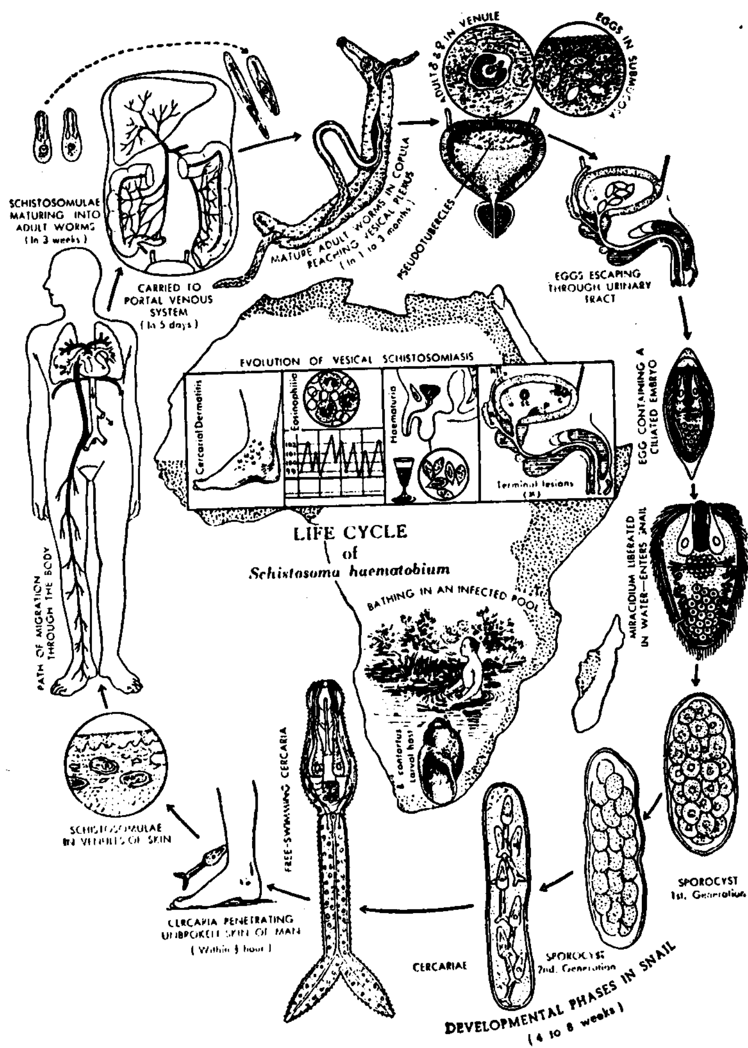
يكثر وجود هذه الدودة في أجزاء من أفريقيا والشرق الأوسط . وقد انتشرت الإصابة بهذه الدودة في وادي النيل منذ أيام نابليون عندما كان في مصر . والآن ينتشر المرض في السودان وأثيوبيا والشاطئ الشرقي من الصومال حتى الكونغو وكذلك

في جنوب أوروبا مثل جنوب البرتغال وجزيرة قبرص وغرب آسيا مثل فلسطين (يافا) ، ولبنان ، وشمال سوريا ، والجزيرة العربية والعراق ، وإيران .

الشكل ودورة الحياة Morphology & Life cycle :

تسكن هذه الدودة في الغضروف الرابط وفي الشبكة الوريدية في المثانة والبروستات والرحم . وتحتوي على ماصين عضليين أكبرهما الماص البطني ويمتلك الذكر الأنثى خلف الماص البطني المسمى بـ (Gynaecophoric Canal) ، وتمتد إلى النهاية الأمامية حيث تضع بيوضها طولياً ، ففي كل فترة تضع بيضة وتنسحب إلى الوراء قليلاً ثم تضع بيضة أخرى ، وهكذا يمتلئ الوريد الصغير بالبيوض ، وتنتقل البيوض عبر الأوعية إلى الغشاء المخاطي للمثانة البولية ، وتدخل إلى المثانة ثم تخرج مع البول من خلال الإحليل .

وتمر دورة حياة الدودة في عائلين ، العائل الأول هو الأساسي أو النهائي (الإنسان)، والثاني العائل المتوسط وهو القوقع مثل الحلزون المائي (*Bulinus truncatus*) ، تمر البيوض المحتوية على أجنة مع البول خارج العائل الأساسي وهو الإنسان ، وتستطيع أن تدخل إلى الماء وتخرج اليرقة المهدبة (Ciliated larvae) ، والتي تسمى بالميراسيديا (Miracidia) من البيضة حيث تتحرك بسهولة في الماء باحثة عن العائل الثانوي أو المتوسط ، وعند دخول الميراسيديا إلى العائل المناسب فإنها تخترق الأنسجة الناعمة للحلزون وتصل إلى الكبد ، وهنا تفقد أهدابها وأعضاء أخرى ، وبعد ذلك بحوالي 4 – 8 أسابيع تمر بتغيرات تطورية ، وتتحول الميراسيديا إلىSporocyst أنبوبية وهذا الأخير يتكاثر ليكون جيلاً جديداً منها . وبعد أسابيع من هذه العملية عند عدم ظهور مزيد من التكاثر فإن الناتج من Sporocyst يعطي الشكل النهائي في اليرقة ، وهذه عبارة عن السركاريا Cercariae التي تحتوي على شوكة ذيلية (Fork - tailed) ، وهي الضارة للإنسان وهذه السركاريا تخرج من Sporocyst من داخل الحلزون إلى الماء .


ADULT ♂ & ♀ IN VENULE
EGGS IN SUBMUCOSA
SCHISTOSOMULAE MATURING INTO ADULT WORMS (In 3 weeks)
CARRIED TO PORTAL VENOUS SYSTEM (In 5 days)
MATURE ADULT WORMS IN COPULA REACHING VESICAL PLEXUS (In 1 to 3 months)
PSEUDOTUBERCLES
EGGS ESCAPING THROUGH URINARY TRACT
EVOLUTION OF VESICAL SCHISTOSOMIASIS
Cercarial Dermatitis
Eosinophilia
Haematuria
Terminal lesions
LIFE CYCLE of Schistosoma haematobium
BATHING IN AN INFECTED POOL
EGG CONTAINING A CILIATED EMBRYO
MIRACIDIUM LIBERATED IN WATER—ENTERS SNAIL
PATH OF MIGRATION THROUGH THE BODY
Larval host
FREE-SWIMMING CERCARIA
SCHISTOSOMULAE IN VENULES OF SKIN
CERCARIA PENETRATING UNBROKEN SKIN OF MAN
SPOROCYST 1st. Generation
SPOROCYST 2nd. Generation
CERCARIAE
DEVELOPMENTAL PHASES IN SNAIL (4 to 8 weeks)

دورة الحياة

وتحدث الإصابة عندما ينزل الإنسان إلى الماء المحتوي على السركاريا وتستطيع السركاريا اختراق الجلد غير المجروح مباشرة ، وتدخل بوساطة الذيل ، وتصل الأوردة الصغيرة الطرفية ، ومن هنا تحمل عن طريق الجزء الأيمن من القلب إلى الشعيرات الرئوية ، وتحتاج إلى بعض الأيام حتى تخترق اليرقة وتصل إلى الرئتين ، وهكذا يحملها الجزء الأيسر من القلب إلى الدورة التنظيمية (Systemic Circulation) . والغالبية تحول مجراها إلى الأورطة البطني وتخترق إلى الشريان المساريقي (Mesenteric artery) وتمر من خلال المخدات الشعرية (Capillary bed) في الأمعاء، وتدخل الدورة البابية (Portal circulation) وهي حمل الدم من أعضاء الهضم والطحال خلال الوريد البابي (Portal vein)، وتحتاج إلى 5 أيام حتى تصل إلى الكبد . وفي الجزء الداخلي من الكبد تحتاج اليرقة إلى 3 أسابيع من وقت الدخول حتى تصبح بالغة . وبعد أن تصبح متطورة جنسياً فإنها تخرج من الكبد عكس مجرى الدم لتهاجر إلى الوريد المساريقي الأمامي ثم إلى الوريد الشرجي ، فالأوردة الجوفية وأخيراً تصل إلى الأوردة المثانية . وتحتاج إلى 1 – 3 أشهر للدورة حتى تصل إلى الأوردة الشبكية الحوضية والمثانية منذ الدخول الأول في الجلد .

وعندما تنضج الدودة جنسياً يحصل التزاوج ، وبعدها الإخصاب حيث تضع الأنثى بيوضها وتخرج مع البول ، وهكذا تتكرر الدورة .

الإصابة Pathogenicity :

للإصابة بها يكفي حمام واحد في ماء ملوث   ومجرد اتصال الماء بالجلد تستطيع السركاريا الالتصاق بالجلد ، وعند تبخر الماء تخترق الجلد .

كيفية انتاجها للمرض :

يمكن لدوران البيوض أن تنحت الأوعية الدموية وتسبب النزيف ، وتتواجد البيوض بكثرة في الأنسجة ، وتعمل كبروتين غريب ، حيث تمتلك تأثيراً مثيراً مما يؤدي إلى تكاثر الأنسجة بشكل غير سوي (Hyperplasia) . وفي هذه الحالات تنتج الأنسجة ما

يسمى بالتكلس الكاذب (Pseudotubercle) حول كل بيضة كردة فعل ، وهذه تسمى كذلك (Egg - granuloma) . وتظهر عقد صغيرة (Nodules) مبكرة ، وتتكون من خلايا بيضاء حامضية(Eosinophi) ، وخلايا وحيدة (Monocytes) وخلايا لمفاوية ، وبعد ذلك يختفي هذا التفاعل الخلوي ليتبدل بالتفاف في الأنسجة الليفية في منتصف منطقة وجود البيوض المتكلسة .

الأعراض السريرية :

يطلق لقب (Schistosomiasis haematobia) على الإصابة بـ *S. haem.* ، ويمر تطور المرض بمراحل ثلاثة :

1. في مكان اختراق السركاريا يحدث التهاب في الجلد (Dermatitis) وهذا يحدث في البلهارسيا غير المعدية للإنسان والمعدية للطيور والثدييات الأخرى الصغيرة .
2. وبسبب الإفرازات التي تخرجها أثناء نموها في الدم الداخل إلى الكبد فإنها تؤدي إلى ظهور الحمى ، وطفح جلدي ذي بثور حكاكة (Urticaria) وزيادة في عدد الخلايا الحامضية (Eosinophils) ، وتضخم في الكبد ويصبح الطحال ملموساً ومحسوساً وتظهر هذه الأعراض في الأسبوع الرابع أو الخامس من الإصابة .
3. في وقت وضع البيض وهذه تسمى بالأعراض الموضعية وتظهر عادة في الفترة ما بين 3 – 9 أشهر من الإصابة ، وتتميز هذه المرحلة بوجود الدم مع البول من دون ألم ، وبعد ذلك بوقت فإن الجهاز التناسلي القريب يصبح مصاباً في البداية عن طريق الالتهاب الحبيبي بالبيوض وأخيراً بالتليف والتكلس (Calcification) .

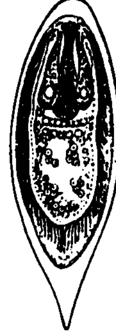
التشخيص المخبري Lab. diagnosis:

وهذا يعتمد على مشاهدة بيوض *S. haem.* في :

1. الفحص المجهري للبول المرسب .
2. عينة نسيجية من المخاط المثاني . وتقسم الأنسجة المخاطية إلى قسمين ،واحد يوضع بين شريحتين للفحص المجهري لمشاهدة بيوض *S. haem.* ، والثانية للفحص النسيجي (Histology) .

العلاج Treatment :

والأدوية التي تؤثر تأثيراً جيداً هي (Dehydrometine و nilodin.)



بيوض دودة ***S. haematobium***

2) *Schistosoma mansoni* :

ويبلغ طولها 1 سم .

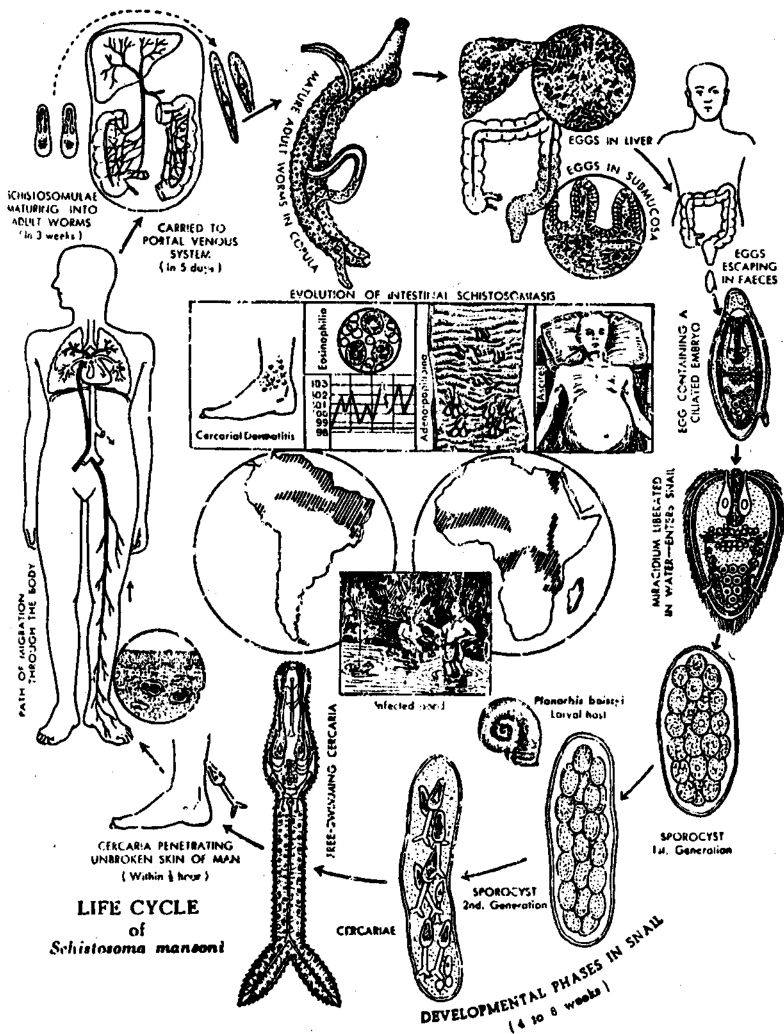
التوزيع الجغرافي في أجزاء من أفريقيا وجنوب أمريكا . وتقطن في الكبد والأمعاء وخاصة المنطقة الشرجية قبل المستقيم والأوعية البطنية وتشعبات الوريد البابي في الكبد .

الشكل : يشبه ***S. haem.*** مع فارق بسيط .

دورة الحياة : تشبه دورة حياة ***S. haem.*** .

الإصابة Pathogenicity :

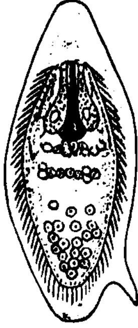
تسمى الإصابة بـ (*S. mansoni*) بـ (Schistosomiasis Mansoni) ، وتعرف كذلك بالبلهارسيا المعوية (Intestinal bilharziasis) او(Schistosomal dysentry) والنوع المعوي يسمى بتضخم الطحال المصري (Egyptian Splenomegaly) ، والتأثير المرضي مشابه لحالة *S. haem.* ، وتتميز هذه الحالة بالإسهال الشديد بسبب الإصابة بمنطقة الشرج . وكذلك تضخم في الكبد وزيادة في ضغط الدم في الوريد البابي ، وهذا يؤدي إلى تضخم في الطحال .


SCHISTOSOMULAE MATURING INTO ADULT WORMS (in 3 weeks)
CARRIED TO PORTAL VENOUS SYSTEM (in 5 days)
MATURE ADULT WORMS IN COPULA
EGGS IN LIVER
EGGS IN SUBMUCOSA
EGGS ESCAPING IN FAECES
EVOLUTION OF INTESTINAL SCHISTOSOMIASIS
Cercarial Dermatitis
Eosinophilia
Adeno-papilloma
Ascites
EGG CONTAINING A CILIATED EMBRYO
MIRACIDIUM LIBERATED IN WATER—ENTERS SNAIL
PATH OF MIGRATION THROUGH THE BODY
Infected pond
Planorbis boissyi
Larval host
FREE-SWIMMING CERCARIA
SPOROCYST
1st. Generation
SPOROCYST
2nd. Generation
CERCARIAE
CERCARIA PENETRATING UNBROKEN SKIN OF MAN (Within ½ hour)
LIFE CYCLE
of
Schistosoma mansoni
DEVELOPMENTAL PHASES IN SNAIL (4 to 8 weeks)

دورة الحياة

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

مشاهدة بيوض *S. mansoni* كما هو الحال في *S. haem.* . وذلك بعمل تحضير رطب لعينة البراز باستخدام المحلول الملحي أو محلول اليود .



بيوض *S. mansoni*

3) *Schistosoma japonicum* :

ويبلغ طولها 1.2 – 2 سم .

هذه هي دودة الشرق الأقصى حيث وجدت في الصين واليابان وجنوب فرموزا والفلبين وبورما . وتسكن في الجزء الداخلي الكبدي من الجهاز الوريدي البابي والوريد المساريقي العلوي والجزء الأخير من الأمعاء الغليظة .

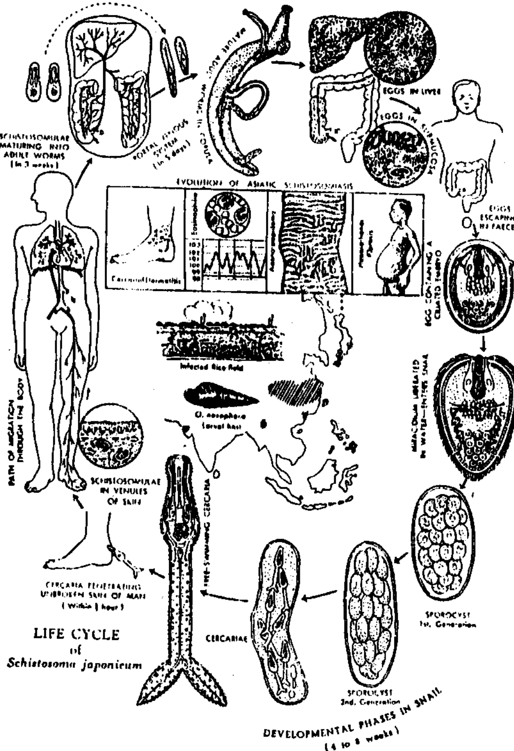
يشبه شكلها شكل *S. haem.* مع إختلاف بسيط ، وتشبهها في دورة حياتها .

الإصابة Pathogenicity :

تسمى الإصابة بهذه الدودة بمرض كتياما **(Katayama disease)** أو **(Intestinal & hepatic schist.)** الشرقية ، أو**(Schistosomiasis Japonica)** .

يظهر مكان الإصابة في هذه الحالة أكثر وضوحاً من حالة *S. mansoni* بسبب كبر البيض الذي يفرز وتظهر الأعراض في الأمعاء على شكل إسهالات . وبعد ذلك يصاب الكبد ، وهذا يتصف بتليف كبدي مع وجود حبيبات . وفي الحقيقة فإن فصوص الكبد لا تتأثر ، ولذلك لا تظهر عقد صغيرة (Nodule) في خلايا الكبد . ويحصل كذلك توسع في الأوعية الشعرية . ويحدث تلون في خلايا (Kupffer's cells) بسبب تكون صبغة الهيماتين (Haematin) ، ويحدث في الكبد تصلب للبيوض المتحببة وموت ليفي ، ويمكن ان يحدث ذلك في حالة (*S. mansoni*) ، ولكن تبقى وظيفة الكبد معطلة بسبب التعويض في زيادة تدفق الدم عبر الشريان الكبدي .

وأما في الطحال ، فيظهر فيه تضخم بسبب ارتفاع ضغط الوريد البابي ، الذي نتج عن انسداد الخلايا الكبدية التي حصل فيها تليف في وجه الدم القادم إليها . ولا توجد حالة البيوض المتحببة في الطحال .



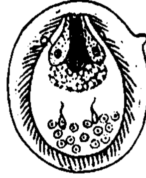
التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

كما هو الحال في *S. haem.* و *S. monsoni* ، وكذلك العلاج .

الوقاية :

في جميع الحالات يمكن عمل ما يلي :

1. استئصال المرض من الإنسان وذلك بمعالجة المصابين .
2. منع تلوث الماء ببراز وبول الإنسان .
3. تدمير الحلزون الناقل في المناطق الموبوءة .
4. تجنب السباحة أو الاستحمام أو الغسيل في الماء المصاب .



بيوض دودة
S. japonicum

ملاحظات :

1. يمكن مشاهدة المرسيديا تحت المجهر إذا وضعت عينة البول أو البراز المحتوية على بيوض حية في ماء يتراوح 10 أضعاف حجم عينة البول أو البراز أو أكثر حيث تتحرر المرسيديا من داخل البيضة وتخرج إلى الوسط وتكون متحركة .
2. يكون لكل دودة من ديدان البلهارسيا عائلاً وسيطا من القواقع أو الحلزونات ، وهذا العائل الوسيط لا يكون واحداً في جميع المناطق المصابة ، فمثلاً يعتبر الحلزون من نوع **Bulinus** أو **Physopsis** عائلاً وسيطاً للـ*S.haem.* ، وللتحديد ففي مصر والسودان والشاطئ الشمالي لإفريقيا وتركيا وسوريا وفلسطين والسعودية واليمن والعراق يعتبر

الحلزون من نوع *Bulinus truncatus* عائلاً وسيطاً للدودة بينما يعتبر الحلزون من نوع *B. senegalensis* عائلاً وسيطاً لنفس الدودة في كل من جامبيا والسنغال وهكذا .عند تعرض الإنسان لمياه ملوثة بسركاريا البلهارسيا التي لا تصيب الإنسان عادة (عائلها النهائي الحيوانات والطيور) تدخل السركاريا عبر جلد الإنسان ، وبذلك يمكن أن تؤدي إلى حالة التهاب الجلد **Dermatitis** ولا تتطور داخل جسم الإنسان إلى دودة ، ومثال ذلك :

a. ***Schistosoma nasalis*** **.**

b. ***Sch. faradjei*** **.**

c. ***Sch. rodhajni*** **.**

d. ***Sch. incognitum*** **.**

وتظهر حالة التهاب الجلد بعد حوالي نصف ساعة من انسياب الماء الملوث من على جلد الإنسان حيث يترك بقعاً جلدية حكاكة ، ويمكن أن تظهر حالة الانتفاخ في الجلد بسبب السوائل (الوذمة **Oedema**) ثم تتحول البقع إلى بثور ، والبثور إلى حبوب ثم إلى عقد .

Fasciola hepatica

ويطلق عليها لقب مثقب كبد الخراف **The Sheep Liver Fluke** وهي أول ما اكتشفت بوساطة **Jehan de Brie** عام 1379م . وتتواجد هذه الدودة في جميع انحاء العالم .

وتقطن في بعض الحيوانات مثل الخراف والماعز والبقر حيث تعيش في قنوات الكبد الصفراوية ، وتوجد أحياناً في الإنسان .

الشكل Morphology :

الدودة البالغة تشبه المثقب المفلطح ، حيث يبلغ طولها 3سم ، وعرضها 1.5سم وتتلون باللون البني إلى الرمادي الشاحب . وتحتوي على ماصين ، فالذي في الفم يكون أصغر من الثاني . وتحمل النهاية الأمامية ماصاً فموياً وتشكل نتوءاً مخروطياً بينما تكون النهاية الخلفية دائرية .

تمتد حياتها في الماعز إلى خمس سنوات ، أما في الإنسان فمن 9 – 13 سنة . وتتميز البيوض بالميزات التالية .

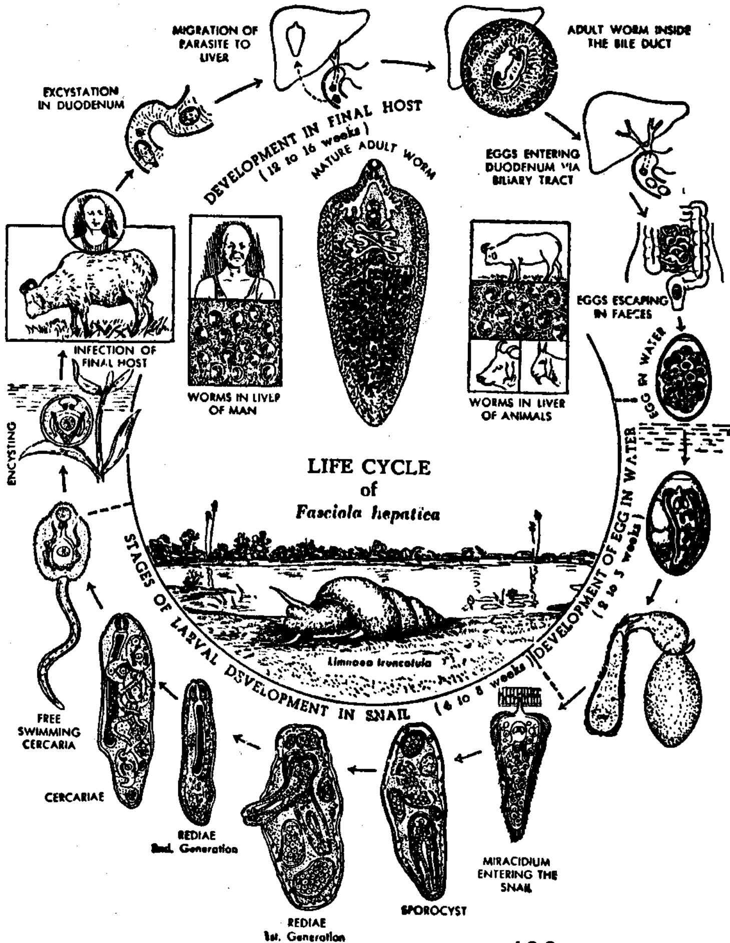
1. بيضاوية الشكل كبيرة الحجم .
2. يبلغ حجمها 140 مايكرومتراً في 80 مايكروميتراً .
3. تحتوي على بويضة كبيرة غير مقسمة .
4. تخرج من الصفراء إلى الأثنى عشر وتخرج بعد ذلك من الجسم مع البراز .
5. لا تطفو في محلول مشبع بالملح .
6. تستطيع أن تتطور فقط في الماء .

دورة الحياة Life cycle :

تمر خلال حياتها بعائلين هما الرئيسي مثل الخراف والماعز والبقر والإنسان ، حيث تكون الديدان الناضجة في الممرات الصفراوية للكبد ، وتعتبر الخراف هي العائل المستودع . أما العائل الثانوي وهو الحلزون والمنحدر من الجنس (Genus) اسمه .Lymnaea وتنضج اليرقة في هذا الحلزون .

وتخرج البيوض مع براز العائل الرئيسي وتنضج في الماء وداخل كل بيضة تتطور ميراسيديا مهدبة خلال أسبوعين إلى ثلاثة . وبعد خروجها من البيضة تجد المرسيديا الطريق

إلى العائل الثانوي الملائم ألا وهو الحلزون . وحين وجود هذه الميراسيديا في عائل مثل الرخويات فإنها تمر بطور الأبواغ المتحوصلة Sporocyst حتى تتكون ميرسيديا ناضجة، وبعد ذلك تتحول إلى طور السركاريا. وجميع الدورة تستغرق من 30 – 60 يوماً . وتخرج السركاريا الناضجة من الحلزون إلى الماء وتتحوصل على ورق الأعشاب ، ويتم إستلاع السركاريا المتحوصلة مع العشب بواسطة الحيوانات وأحياناً عن طريق الإنسان . ومع دخولها إلى القناة الهضمية تدخل السركاريا إلى الأثني عشر وبوساطة جدار الأمعاء تنتقل إلى تجويف غشاء البطن مخترقة جدار الكبد ، وتستقر في النهاية في القنوات الصفراوية حيث تستغرق الرحلة حوالي الشهر ، وتبدأ في النموحتى النضوج الجنسي . وتخرج البيوض مع الصفراء ثم إلى البراز خلال 3 – 4 أشهر بعد الإصابة . وهكذا تتكرر الدورة .



دورة الحياة

الإصابة Pathogenicity :

وتشمل إصابة الإنسان ، وأعراضها المغص المراري (Billary colic) مع تقيؤ وإسهال مستمر وتضخم في الكبد مع زيادة في نسبة الخلايا الحامضية Eosinophils تصل إلى 40٪ - 85٪ .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

ويعتمد ذلك على وجود البيوض في البراز أو في الصفراء بادخال أنبوب في الإثني عشر . والحقيقة أنه لا يوجد فرق في الشكل بين بيوض *F. hepatica* و *F. buski* ومن أجل التشخيص المناعي يحضر أنتيجين من الدودة البالغة لإجراء الفحص الجلدي ، وفحص تثبيت المكمل (C. F. T.) .

العلاج Treatment :

حقن Emetine و Bithionol .

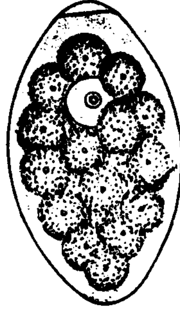
الوقاية :

عن طريق استئصال الحيوانات المصابة ويشمل ذلك معالجة تلك الحيوانات وتدمير العائل الوسيط وكذلك معالجة الناس المصابين الذين يخرجون البيوض مع برازهم .

Fasciola gigantica

دودة مثقبية تشبه الـ *F. hepatica* وبيوضها أكبر من بيوض الـ *F. hepatica*، وتعتبر طفيلاً عاماً لبعض الثدييات وبخاصة البقر في افريقيا وآسيا وهاواي ، وقد وجدت في الإنسان في كل من العراق والاتحاد السوفيتي وفيتنام وهاواي .

وتشبه في دورة حياتها والإصابة والأعراض الـ *F. hepatica* ولكن تستخدم هذه الدودة حلزونات مختلفة كعائل وسيط ، وهي أبطأ في التطور من الـ *F. hepatica* .



بيوض *F. hepatica & F. buski*

Fasciolopsis buski :

تسمى هذه الدودة بالمثقب المعوي الكبير . وتكثر حالات الإصابة في البلاد الآسيوية مثل الصين وتايلند وماليزيا والبنغال وغيرها من المناطق الآسيوية .

وتقطن الدودة البالغة في الأمعاء الدقيقة للإنسان والخنازير . والعائل الطبيعي والمستودع هو الخنزير الذي تنتقل منه الدودة لتصيب الإنسان .

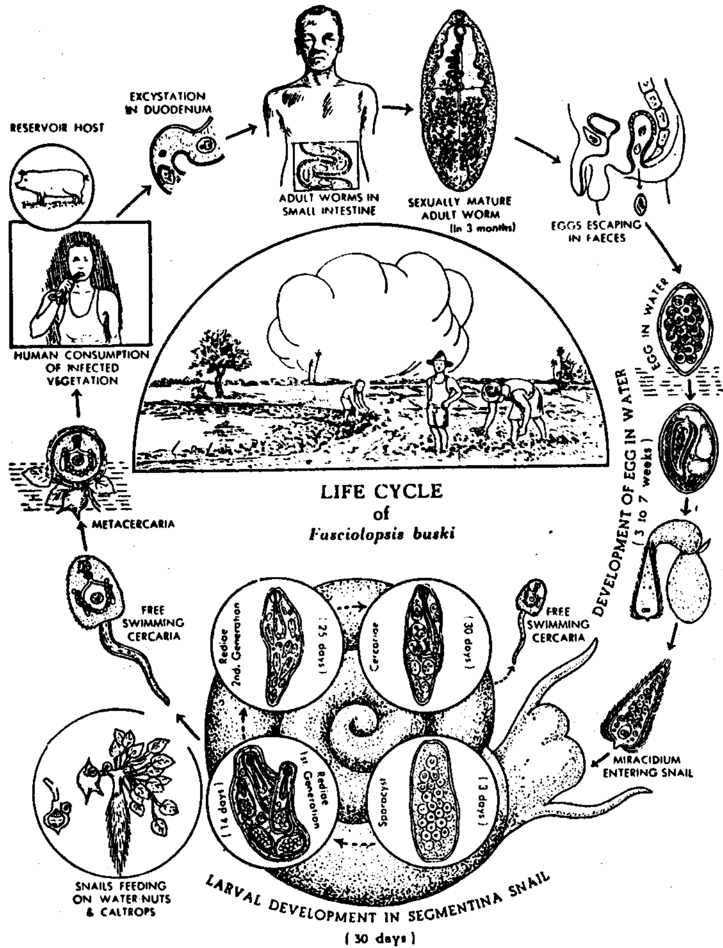
الشكل Morphology :

الدودة البالغة من أكبر الديدان المثقبية حجماً حيث تتطفل على الإنسان وتبلغ من 2 – 7.5سم طولاً و 8 – 20 ملم عرضاً و 0.5 – 3 ملم سمكاً . وهي طولية وبيضاوية الشكل وهي أضيق من الأمام منها من الخلف . وتشبه في مظهرها العام دودة *F. hepatica* .

دورة الحياة Life cycle :

تحتاج إلى عائلين مختلفين هما الرئيسي وهو الإنسان والخنزير حيث توجد الديدان البالغة في الأمعاء الدقيقة . وأما العائل الثانوي وهو حلزون مائي صغير مفلطح ملتف من جنس Genus يسمى Segmentina ، ودورة الحياة تشبه تلك التي في *F. hepatica* .

عند خروج السركاريا من الحلزون فإنها تتحوصل في النبات المائي مثل أخدود القمح والخضار المائية الأخرى والتي يتم إخصابها بالسماد البشري ، وتنمو في البرك الضحلة حيث يتجه الحلزون . وعند ابتلاعها فإن السركاريا تخرج إلى الإثني عشر وتطلق الديدان التي تلصق نفسها بجدار الأمعاء ، حيث تتطور إلى أن تصبح ديدان بالغة خلال ثلاثة أشهر ، وهكذا يتم إطلاق البيوض وتتكرر الدورة بهذا الأسلوب .



دورة الحياة

الإصابة Pathogenicity :

تحدث الإصابة بسبب تناول النباتات الملوثة خاصة التي تؤكل دون طبخ . وتدخل عن طريق القناة الهضمية . وسبب الإصابة هي السركاريا المتحوصلة وموقع الإصابة هو الأمعاء الدقيقة وبخاصة الجزء الأول من الأمعاء الدقيقة الإثنى عشر Duodenum والجزء الثاني منها الصائم (Jejunum) .

تعرف الإصابة بدودة *F. buski* بـ fasciolopsiasis ويظهر المريض أعراض الضعف وفقدان القوة (Asthenia) وفقر دم غير حاد وإسهال مزمن (Chronic Diarrhoea) . وفي الحالات الحادة من الإصابة يصبح فقر الدم شديداً وتحدث حالة الوذمة (Oedema) ، وزيادة في الكريات البيضاء الحامضية (Eosinophils) .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يعتمد ذلك على معرفة تاريخ المرض في المناطق الموبوءة ، وعلى وجود البيوض في البراز مجهرياً وذلك بعمل تحضير رطب مباشر . ويمكن مشاهدة الدودة البالغة بعد شرب الشربة أو استعمال أي دواء طارد لديدان الأمعاء .

العلاج :

Tetrachlorethylene و Hexylresoroinol .

الوقاية :

1. تعقيم السماد البشري قبل استعماله للخصوبة .
2. تدمير العائل الثانوي بالكيميائيات .
3. تجنب تناول الطعام النيئ غير النظيف .



شكل دودة *Fasciolopsis buski*

Heterophyes heterophyes

توجد هذه الدودة في مصر وفلسطين وفي الشرق الأقصى . تسكن هذه الـدودة في الجزء الأوسط من الأمعاء الدقيقة للعائل النهائي .

الشكل Morphology :

تعتبر أصغر الديدان المثقبية أو المفلطحة حجماً حيث يبلغ طولها 2 ملم ، وعرضهـا 0.3 – 0.4 ملم .

دورة الحياة Life cycle :

العائل النهائي هو القطط و الثعلب والإنسان والكلاب ، أما العـائل الوسـيط فهـو الحلزون أو القواقـع المائيـــة مثـل (Molluscan) في مصــر . تتحــول الميرســيديا إلى (Sporocyst) ، حيث تتحول في النهاية إلى سركاريا ، وتتحوصل هذه الســركاريا داخـل العائل الوسيط الثاني (لحم سمك البوري) ، وعند تناول هـذه الأسمـاك ، يصبـح الإنسـان أو العائل النهائي مصاباً .

الإصابة Pathogenicity :

تسمى الإصابة بـ *H. heterophyes* في الإنسان بـ Heterophyiasis حيث تعيش الدودة في القناة المعوية ، وعلى غشائها المخاطي حيث تؤدي إلى الأم المغص والإسهالات المخاطية . يمكن للدودة أن تغزو الأنسجة الداخلة وتبقى فيها . مثل هذه الحالات لا تظهر بيوضاً في البراز وإنما تنتقل إلى أعضاء أخرى بالأوعية اللمفاوية حيث تحمل إلى الصمامات القلبية والدماغ مما يؤدي إلى ظهور أعراض غير طبيعية .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يعتمد على مشاهدة البيوض في البراز من خلال عمل التحضيرات الرطبة وفحصها مجهرياً .

الوقاية :

تجنب تناول الطعام (السمك غير المطبوخ) في المناطق الموبوءة .

الديدان الشريطية Cestodes or Tape Worms

Taenia Saginata :

تسمى هذه الديدان بديدان البقر الشريطية أو ديدان الانسان الشريطية غير المسلحة ، تنتشر الإصابة بهذه الديدان في جميع أنحاء العالم وبخاصة في الهند . وتقطن في الصائم العلوي (Upper jejunum) للإنسان وتتحرك باتجاه معاكس لاتجاه الحركة التموجية للأمعاء .

الشكل Morphology :

يكون لون الدودة البالغة أبيضاً وشبه شفاف ، ويبلغ طولها من 5 – 10 أمتار ، ويمكن أن يصل إلى 24 متراً .

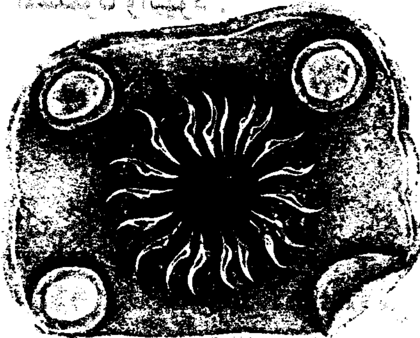
ويبلغ نصف قطر الرأس من 1 – 2 ملم ، ويحتوي على ماصات ، ويمكن أن تكون ملونة . وتكون الرقبة طويلة وضيقة حوالي 0.5 ملم عرضاً ، وتكون هشة . أما أجزاؤها فيتراوح عددها من ألف إلى ألفين . أما الثقب التناسلي فيقع على الطرف المحيطي بجانب النهاية الخلفية لكل جزء ، وتتغير بشكل غير منتظم بين الطرف الأيمن والأيسر ، ويوجد في المهبل عضلة عاصرة . ويبلغ طول عمرها حوالي عشرة أعوام . وحيث لا يوجد فتحة رحمية ، فإن البيوض تخرج من خلال تمزق الفلقة التناسلية ، وتتميز البيوض بالميزات التالية :

1. دائرية ، وتحتوي على أجنة داخلية يظهر فيها 3 أزواج من الكلاليب .
2. نصف قطرها يتراوح بين 31 – 34 مايكروميتراً .
3. تواجد القشرة الخارجية الرقيقة الشفافة يؤدي إلى تجمع البيوض مع بعضها البعض .
4. أما الأجنة الداخلية فإنها بنية اللون ذات جدار سميك ومخططة مثل الشعاع .

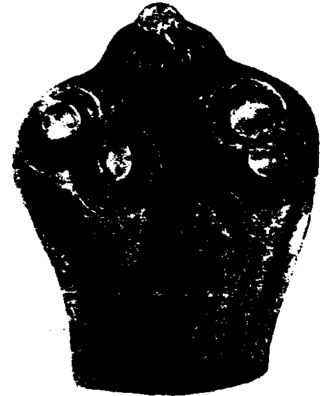
5. لا تطفو في محلول ملحي مشبع .

6. تكون البيوض مقاومة ويمكن أن تبقى حية لمدة 8 أسابيع .

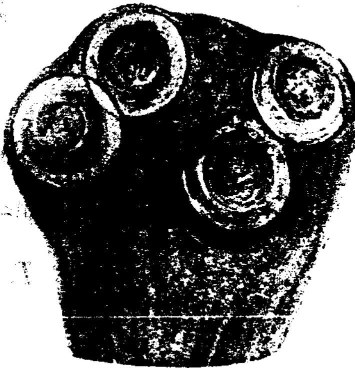
7. معدية للبقر فقط .



مسقط رأسي يوضح الكلاليب والماصات الأربع



رأس دودة مسلحة يحوي كلاليب وأربع ماصات



رأس دودة يحوي ماصات أربع من دون كلاليب

: *Taenia solium*

وتسمى ديدان الخنزير الشريطية أو ديدان الإنسان الشريطية المسلحة . وتنتشر في معظم بقاع العالم ، وتختفي في الناس الذين لا يأكلون لحم الخنزير وبخاصة المسلمون واليهود .

تقطن هذه الديدان في أمعاء الإنسان الدقيقة .

الشكل Morphology :

يبلغ طول الدودة البالغة من 2 – 3 متر . ويبلغ نصف قطر الرأس ملم واحد ، وهو كروي الشكل ويحتوي 4 ماصات دائرية . وتكون الرقبة قصيرة حيث يبلغ طولها من 5 – 10 ملم . أما أجزاؤها فيبلغ عددها من 800 – 900 جزء . والجزء الحامل يبلغ 12 × 6 ملم ، ويكون الثقب الجنسي واقعاً على حافة ذات شفة سميكة ، ويقع وسط الحافة الجانبية لكل جزء ، حيث تتغير بين الحافة اليمنى واليسرى وبشكل غير منتظم ، أما الفتحة المهبلية فلا يوجد عليها عضلة عاصرة . ويبلغ متوسط حياتها أكثر من 25 عاماً . أما البيوض فإنها مشابهة لبيوض *T. saginata* ، وهذه البيوض تصيب الخنزير والإنسان .

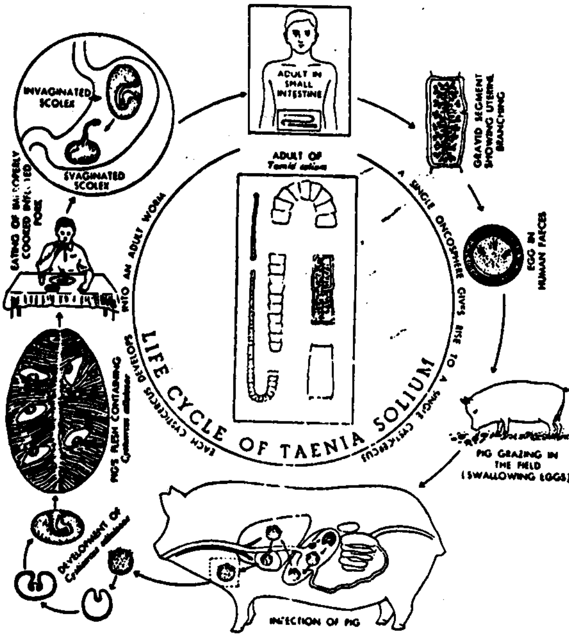
دورة حياة الدودتين Life cycle :

تمر حياة الدودتين في عائلين هما :العائل الرئيسي وهو الإنسان ، والعائل الثانوي وهو البقر في حالة *T. saginata* والخنازير في حالة *T. solium* .

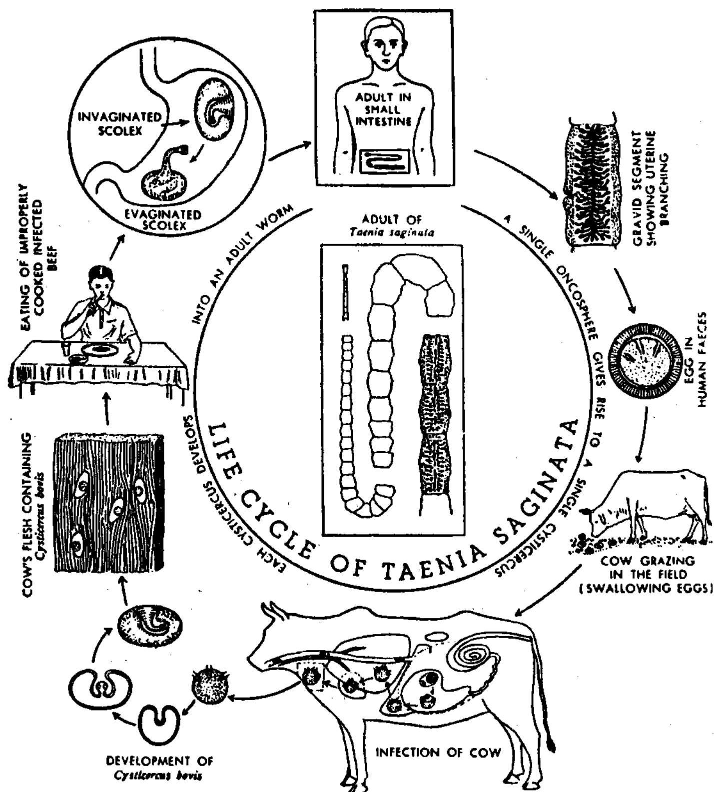
تسكن الديدان البالغة في الأمعاء الدقيقة للإنسان وتخرج البيوض مع البراز إلى الأرض وتبتلع الأبقار والخنازير هذه البيوض أثناء تناولها للأعشاب الملوثة . وعند وصولها إلى أمعاء العائل الوسيط (الثانوي) فإن الجدار المخطط السميك للبيوض يتمزق وتخرج منه البيوض في طور الأجنة (Oncosphere) وتستطيع أن تدخل إلى جدار الأمعاء بمساعدة

الكلاب ، وتدخل إلى الوريد البابي أو الأوعية اللمفاوية المساريقية وأخيراً تصل إلى الدورة التنظيمية للدم . وعادة تنتقل من خلال الوريد البـابي (Portal vein) وتصـل إلى الكبـد والجـزء الأيمـن مـن القلـب ، والرئيتـين والجـزء الأيسـر مـن القلـب والـدورة التنظيميـــة . وتنتقل الأجنة (Oncosphere) من الدورة إلى الأنسـجة العضليـة حيـث تسـتقر وتتطـور هناك . وهذه العضلات التي تتطور فيها البيوض هي اللسان و الرقبـة و الكتـف والفخـذ ، وكذلك عضلات القلب . وتفقد الأجنة (Oncosphere) الكلاب عند وصوله إلى محطتها ، وبعد ثمانية أيـام تشـكل هـذه الأجنـة (Oncosphere) أشـكالاً كيسـية بيضاويـة تـزداد حجماً وهي اليرقة (Larva) .

وتتم إصابة الإنسان بتناوله اللحم المصاب غير المطبوخ ، وبداخـل القنـاة الهضميـة للإنسان . وحينما تتصل اليرقات بالصفراء فإنها تلتصق بجدار الأمعاء ، وتتطور حتى تصبح دودة بالغة ، وتنمو الدودة للنضوج الجنسي الذي يستغرق شهرين إلى ثلاثـة وتبـدأ بإنتـاج البيوض التي تخرج مع البراز مع الأجزاء الحاملة من الدودة ، وهكذا تتكرر الدودة .



دور حياة دودة الخنزير الشريطية



دورة حياة دودة البقر الشريطية

تطور يرقة الدودتين :

يسمى طور يرقة ***T. saginata*** الذي يتطور في البقر والجاموس بـ ***Cysticercus bovis*** ، ويبلغ عرضها 5 – 10 ملم ، وطولها 3 – 4 ملم ، وتمتلك رأساً غير مسلح بارز من جانب واحد . وتستطيع العيش إلى 8 أشهر في لحم البقر ، وتستطيع أن تتطور أكثر فقط في الإنسان . وهذا الطور لا يوجد في الإنسان ، وإنما يوجد فقط في البقر والجواميس .

أما طور يرقة ***T. solium*** الذي يتطور في عضلات الخنازير ، فيسمى بـ ***Cysticercus cellulosae*** ، فالحوصلة الناضجة عبارة عن جسم بيضاوي معتم يبلغ

عرضه 8 –10 ملم ، وطوله 5 ملم . ويقع المحور الطويل بموازاة ألياف العضلات . وتتلون المنطقة المصابة ببقع حليبية بيضاء حيث الرأس الناضج الذي يحتوي على كلاب وماص . وتحتوي الحوصلة على سائل غني بالملح . وتستطيع اليرقة العيش لمدة ثمانية أشهر في لحم الخنزير ، وتستطيع التطور أكثر فقط في حالة تناولها من قبل الإنسان . وقد وجد أن هذا الطور قد يظهر في الإنسان .

قطعة لحم تحوي يرقات متحوصلة



الإصابة Pathogenicity :

تتم الإصابة بهذه الديدان من خلال تناول اللحم المصاب غير المطبوخ جيداً . اثناء وجود الديدان الناضجة في الأمعاء لا تظهر أية أعراض ، وأحياناً تكون هذه الديدان مسئولة عن عدم راحة بطنية غير واضحة أي مبهمة وسوء هضم مزمن ، وفقر دم واضطرابات معوية مثل الإسهال وتتحول إلى إمساك (Constipation) . ومن الممكن للمريض أن يشاهد أجزاء من الدودة الشريطية في برازه أو على جسمه أو على ملابسه .

وعادة فإن اليرقة Larvae لا توجد في الإنسان ، وهذا ينسحب على *T. saginata* أما *T. solium* ، فيوجد هذا الطور أحياناً في الإنسان . وفي بعض الأحيان فإن هذا الطور يدخل إلى الإنسان عن طريق الطعام والشراب الملوثين بهذه البيوض . وبالإضافة إلى ذلك فمن المحتمل أن يصيب الإنسان نفسه بسبب فقدان النظافة الجسدية والشخصية أو بسبب عادات غير صحية . ويمكن للحركة التموجية العكسية للأمعاء أن تقذف بأجزاء حاملة للبويضات إلى المعدة حيث تعادل إبتلاع آلاف البيوض . وهذه اليرقات أو البويضات عادة توجد بعشرات الآلاف ويحتمل وجودها مفردة . وتنتشر هذه اليرقات في الأنسجة تحت الجلدية والعضلات حيث تسبب عقدة صغيرة ظاهرة (Nodule) ، وربما توجد في الدماغ وتؤدي إلى الصرع .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

ويتم ذلك بفحص مجهري لعينة براز ، ولكن يفضل فحص العينة بالعين المجردة لمشاهدة قطع من الدودة ، حيث تشاهد بسهولة تامة لأنها تتلون باللون الأبيض ، بينما يكون لون البراز الطبيعي أصفر تقريباً ، ولمشاهدة البيوض مجهرياً يمكن عمل تحضير من عينة براز مباشرة بالتحضير الرطب وباستخدام محلول ملحي أو محلول يود .



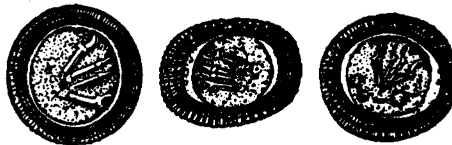
عينة براز تحوي قطعاً من الدودة

العلاج :

(Atebrin) Mepacrine

الوقاية :

1. تجنب تناول اللحوم غير المطبوخة جيداً .
2. تصريف مياه المجاري بشكل صحي ومعالجة المصابين لمنع إصابة الحيوانات المعنية .
3. التفتيش على المسالخ .



بيوض دودة

T. saginata* , *T. solium* or *E. granulosus

Hymenolepis nana

وتسمى الدودة الشريطية القزم . وتنتشر في جميع أنحاء العـالم . وتقطـن في الأمعـاء الدقيقة في نهاية اللفائفي في الإنسان ، وتوجد كذلك في الفئران والجرذان .

الشكل Morphology :

تعتبر الدودة البالغة واحدة من الديـدان الـتي تصيـب الأمعـاء الدقيقـة في الإنسـان وتكـون صغـيرة مشـابهة للخيـط ويبلـغ طولهـا 2.5 – 4سـم بنصـف قطـر ملـم واحــد . ويمكن للدودة أن تتواجد بأعداد كبـيرة تـتراوح مـن ألـف إلى ثمانيـة آلاف وعمرهـا قصـير ويبلغ أسبوعين .

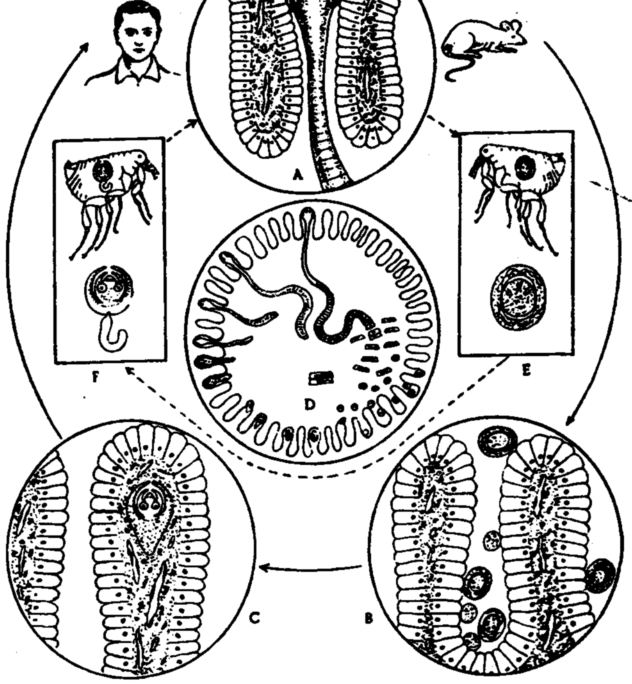
وتحتوي الدودة على رأس كروي يحتوي على أربع ماصات ، وتكون الرقبة طويلـة والرأس مسلح بالكلاليب ، ويبلغ عدد الأقسام أو الأجزاء حـوالي 200 جـزء ويبلـغ طـول الواحد منها 0.3 ملم وعرضها 0.9 ملم وأما البيوض فإنهـا تخـرج مـع الـبراز وتتمـيز هـذه البيوض بأنها :

1. بيضاوية أو دائرية الشكل ، ويتراوح نصف قطرها من 30 – 45 مايكرومتراً .
2. يوجد غشـاءان واحـد خـارجي رقيـق ولا لـون لـه ، وآخـر داخلـي يحتـوي علـى أجنـة (Oncosphere) مع ثلاثة أزواج من الكلاليب دبوسية الشكل .
3. والمسافة بين الغشائين مليئة بالحبيبات وزوائد قطبية .
4. تطفو في محلول مشبع بالملح .



دورة الحياة Life cycle :

لا يوجد عائل وسيط وجميع مراحل التطور الـتي تحـدث مـن اليرقة وحتـى البلـوغ تحدث في عائل واحد . تعتبر *H.nana* من الإسـتثناءات الـتي تقـول بـأن جميـع الديـدان لا تتكاثر في جسم العائل الرئيسي .



دورة حياة الدودة

Life Cycle of *Hymenolepis nana.*

عند تناول البيوض الحاوية على أجنة فإن الأجنة تخرج من البيضة وتدخل إلى الخملات ، وتدخل الأجنة مرة أخرى تجويف الأمعاء الدقيقة ، وأخيراً تهاجم الخملات الجزء الأمامي من الأمعاء الدقيقة وتتطور في 4 أيام إلى يرقة . وبعد النضوج التام تتمزق الخملة ، وتدخل اليرقة مرة أخرى إلى تجويف الأمعاء الدقيقة ، وأخيراً تهاجم خملة أخرى وبعدها تتطور إلى دودة بالغة . وبعد ذلك بثلاثين يوماً تبدأ البيوض بالظهور في البراز وبعض البيوض تبقى في تجويف الأمعاء وتتكرر الدورة مرة اخرى .

الإصابة Pathogenicity :

تظهر الإصابة الأولى بسبب تناول الطعام الملوث ببيوض *H. nana* التي خرجت مع براز إنسان أو حيوان مصاب ، وبعد ذلك فإن الإصابة الذاتية تزيد عدد الديدان . وعادة لا توجد أعراض ، ولكن في الحالات الشديدة تظهر آلام بطنية وإسهال .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يعتمد على مشاهدة البيوض في البراز تحت المجهر وذلك بعمل التحضير للعينة سواء بمحلول اليود أو بالمحلول الملحي.

العلاج :

ليس من السهل القضاء على هذه الديدان كما هو الحال في الديدان الشريطية الأخرى .



رأس الدودة



بيوض الدودة

Hymenolepis diminuta

تعتبر هذه الدودة متطفلة عامة في الفئران والجرذان ، يبلغ طولها من 20–60 سنتميتراً ، ويحتوي رأسها غير المسلح على أربع ماصات ، ويبلغ عدد أجزائها من 800 – 1000 جزءاً . يكون حجم البيوض أكبر بقليل من حجم بيوض الـ *H. nna* ، ويتلون الجدار الخارجي باللون الأصفر ولا تحتوي هذه البيوض على زوائد قطبية .

دورة الحياة Life cycle :

تمر دورة الحياة في عائلين ويسمى الطور في الذباب باليرقة (Cyticerocoid) ، وأما طور البلوغ فيتكون في الفئران والجرذان وأحياناً في الإنسان وبخاصة في الأطفال وهذه اليرقات هي الطور المعدي للإنسان .

وتتم إصابة الإنسان عن طريق أكله للذباب المصاب بطريق الخطأ حيث تتطور اليرقة (Cysticerocoid) إلى دودة بالغة في أمعاء الإنسان . ولا تتعدى الأعراض إضطرابات معوية بسيطة .



بيوض الدودة
H. diminuta

التشخيص والوقاية :

كما ورد في حالة الدودة السابقة .

Echinococcus granulosus

يحتوي هذا الجنس (Genus) على العديد من الديدان الشريطية الصغيرة جداً والتي تعيش كديدان صغيرة في أمعاء الحيوانات . ومنها *E. granulosus* . وقد وجد انها المسبب لمرض التحوصل (Hydatid) في الإنسان والحيوانات الأليفة . وتقطن في الأمعاء الدقيقة . وتسمى هذه الدودة دودة التحوصل المائي ، تنتشر هذه الديدان في شمال ووسط أوروبا ، وشمال أمريكا . تحدث الإصابة بها في المناطق التي تتشارك الكلاب مع الأغنام والأبقار والإنسان في المعيشة ، وتظهر في جنوب إفريقيا والشرق الأوسط وأستراليا وجنوب أمريكا ، ففي هذه المناطق تقدر إصابة الكلاب بالربع والماشية بالنصف وفي الشرق الأوسط توجد الإصابة بنسبة 20٪ في الأغنام ، أما الخنازير فمصابة بكثرة في ولاية فرجينيا الأمريكية .

الشكل Morphology :

تشبه *T. saginata* ، ولكن تختلف حجماً . يحتوي الرحم الناضج على جذع مستعرض مع فجعات تشبه الأكياس طولها 2 – 8 ملم ومكونة من الرأس والعنق ، وتحوي 3 – 4 قطع ، واحدة غير ناضجة واثنتين ناضجتين وواحدة مخصبة . والرأس مسلح ويحتوي على أربعة ماصات ، وتوجد الديدان بكثرة وتصل إلى عدة آلاف في أمعاء الكلب وتحتوي كل قطعة ناضجة على 500 – 800 بيضة . وتحتاج 4 – 6 أسابيع لتصبح ناضجة في أمعاء الكلب .



الدودة

دورة الحياة Life cycle :

تمر هذه الدورة في عائلين هما :

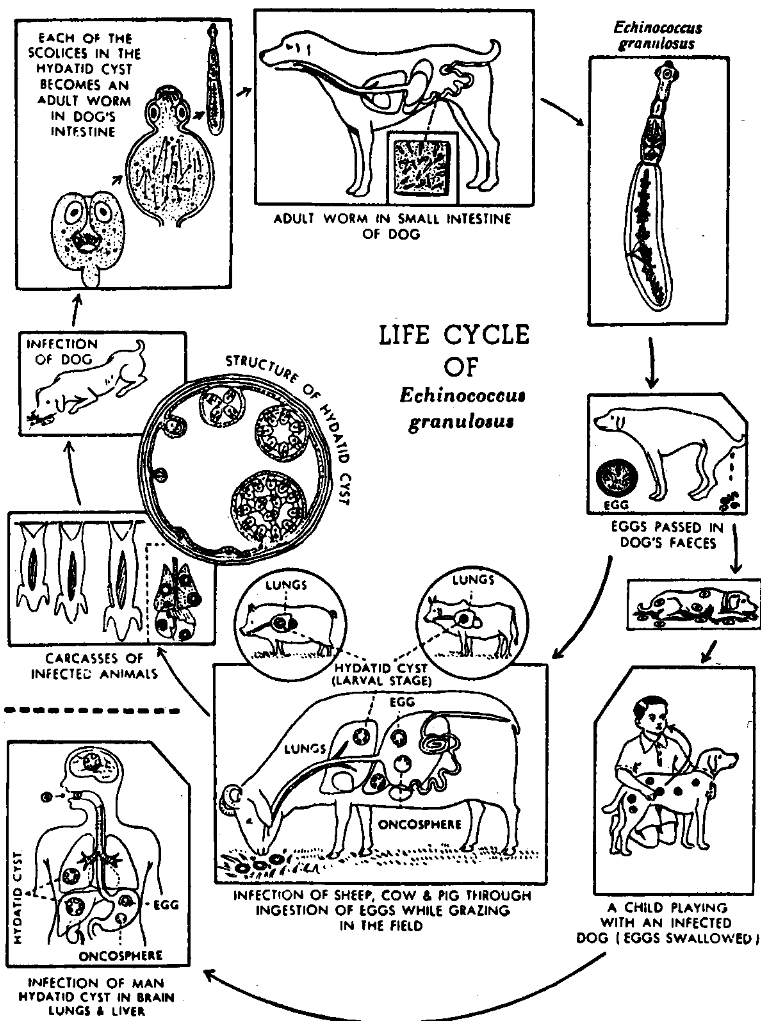
1) العائل الرئيسي :

وهو الكلاب والذئاب والثعالب حيث تعيش الدودة البالغة في الأمعاء الدقيقة لهذه الحيوانات .

2) العائل الثانوي :

حيث يكون في الأغنام والخنازير والبقر والحصان والإنسان . حيث يؤدي إلى ظهور الحوصلة المائية (Hydatid Cyst) .

تخرج البيوض مع البراز ويبلغ حجمها 30 – 38 مايكروناً ، وتبلغ هدفها عن طريق المياه الملوثة بالبراز من الكلب أو الذئب أو الثعلب ، ويأتي الإنسان لتناول هذه البيوض وبخاصة الأطفال عندما يلاعبون الكلاب وتأتي الإصابة كذلك من جراء لمس فرو الكلب الملوث بالبيوض . وتتكون الحوصلات في الإنسان غالباً في الكبد (60 – 75٪) وفي الرئة (20٪) ومنها ما يصل الكلية والطحال والعضلات والقلب والدماغ ... الخ . تتكون الحوصلة ببطء فتتحول اليرقة الصغيرة إلى مثانة فارغة (Hollow bladder) ، وبعد ذلك يتكون غشاء ناتج عن مناعة الجسم ، وبعد حوالي الشهر تبلغ 1 ملم وبعد 5 شهور تبلغ 10 ملم ، وبعد ذلك يبدأ الغشاء الداخلي بتكوين غشاء واق بتجويف خاص ، ويبقى هذا متصلاً بساق رفيعة ، ويمكن لبعض هذه الأكياس الصغيرة وهي الأجنة أن تنتقل إلى الشعيرات الرئوية وتدخل الدورة الدموية وتستقر في أعضاء معينة . من الناحية العملية جميع أعضاء الحيوانات الأليفة يمكن أن تصاب وبخاصة الكبد والرئتان . وحيثما تستقر الأجنة فإنها تكون أكياساً مائية (Hydatid cyst) ، وإذا أدخلت الأكياس المائية المخصبة إلى جسم الكلب فإنها تستطيع أن تتحول إلى دودة ناضجة خلال 6–7 أسابيع في الأمعاء ، وهكذا تتكرر الدورة .



دورة حياة الدودة

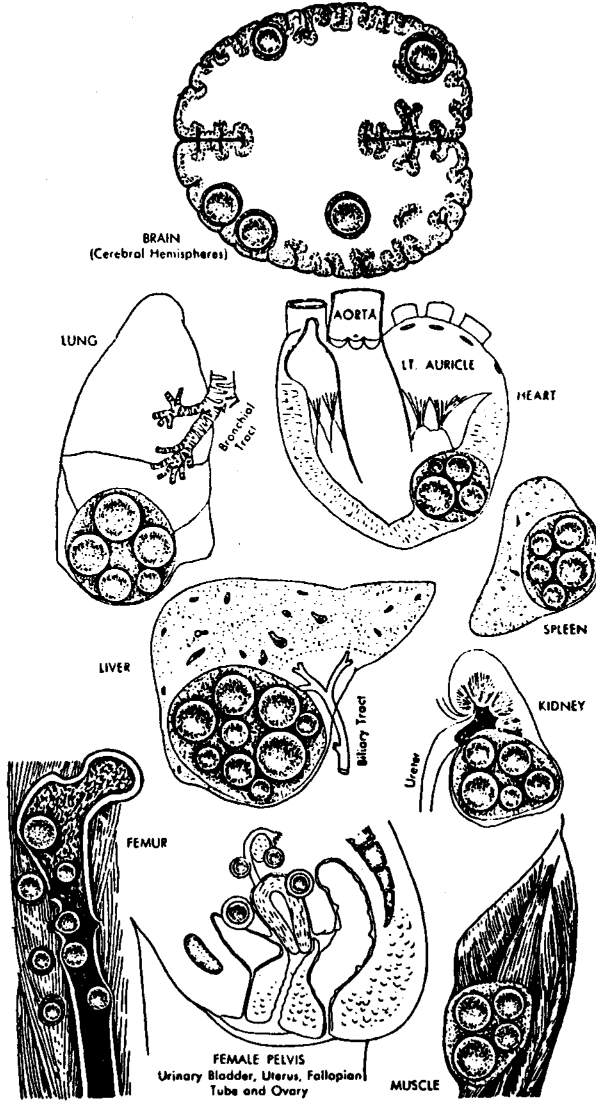
الإصابة Pathogenicity :

لا تسبب الديدان الناضجة ضرراً كبيراً في الكلاب ، وتوجد بأعداد كبيرة في الأمعاء الدقيقة للكلب المصاب ، حيث تكون موجودة في الغشاء المخاطي . تنتقل بيوض الدودة من براز الكلب إلى الإنسان ويتم ذلك إما بالإتصال المباشر مع الكلاب المصابة أو السماح للكلاب بالأكل من نفس الإناء أو تناول خضار أو مياه ملوثة ببراز الكلب المصاب. ويحصل المرض بنسبة أعلى في الأطفال . وفي كثير من الحالات تبقى الإصابة دون أعراض لعدة سنوات ويمكن التأكد من وجودها في العينة الميتة (Autopsy) وبتأثيرها الضاغط على الأنسجة المحيطة أو عند تمزق الحوصلة أو تقرحها .





شكلان للحوصلة المائية



الحوصلة المائية في مختلف الأعضاء

التشخيص Diagnosis :

1. تفاعل كاسينو **Casoni's reaction** ، وهو عبارة عن فحص الحساسية للجلد .
2. فحص الدم لزيادة الكرات البيضاء الحامضية حيث تصل إلى 20 – 25٪ .
3. الفحوصات المصلية **Serological tests** ، وتشمل فحص الترسيب **(Precipitation)** وفحص تثبيت المكمل **C. F. T.** .
4. فحص السائل الموجود داخل الحوصلة المتقيحة .
5. صور الأشعة للرئتين والكبد .

الوقاية :

1. منع إصابة الكلاب .
2. الوقاية الشخصية كغسل اليدين قبل الأكل .



ديدان

الديدان الحبلية Nematodes

Ascaris Iumbricoides

ويطلق عليها اسم الديدان الأسطوانية ، وتنتشر في جميع أنحاء العالم وتكثر في المناطق المدارية مثل الصين وجنوب شرق آسيا ، وتظهر في الناس الذين يمارسون عادات غير صحية . وتقطن الديدان البالغة في تجويف الصائم الجزء الثاني من الأمعاء الدقيقة (Jejunum) للإنسان ويساعد على بقائها احتواؤها على عضلات .

الشكل Morphology :

تشبه الدودة البالغة دودة الأرض (Earth Worm) ، وتعتبر أكبر دودة حبلية تتطفل في أمعاء الانسان . وعند خروجها من الأمعاء تكون بنية فاتحة أو زهرية اللون ، ولكن تتغير تدريجياً إلى الأبيض ، وتحتوي على نهايتين دائريتين شريطيتين ، وتكون النهاية الأمامية أرق من الخلفية . ويفتح الفم إلى النهاية الأمامية ، ويطفو الجهاز الهضمي والتناسلي داخل تجويف الجسم محتوياً على سائل ، ويبلغ عمرها في الإنسان أقل من سنة .



الدودة الأنثى   الدودة الذكر

يبلغ طول الذكر من 15–25 سنتميتراً ، قطرها 3–4 ملم . وتنحني النهاية الذيلية في الذكر على شكل كلاب برأس مخروطي . أما الأنثى فهي أطول وتبلغ من 25–40 سنتميتراً بنصف قطر 5 ملم . أما الطرف الخلفي فهو غير منحنٍ وغير مدبب ولكنه مخروطي مستقيم . ويقع الشرج بموقع شبه طرفي وتفتح مباشرة إلى الناحية البطنية ، أما الفرج فإنه يفتح في نصف ثلث الجسم في منتصف الناحية البطنية ، ويمكن للأنثى أن تضع 200,000 بيضة في اليوم .

أما البيوض التي تفقسها الدودة المخصبة فإنها تخرج مع البراز في الإنسان ، وتتميز البيضة المخصبة بالميزات التالية :

1. تتميز بشكلها الدائري أو البيضاوي ويبلغ طولها من 60 – 75 ميكرومتراً ، وعرضها 40–50 ميكرومتراً .
2. تتلون دائما بلون الصفراء واللون البني الذهني .
3. تحاط بغطاء سميك ناعم شفاف ويمكن لهذا الغطاء أن يفقد من البيضة .
4. تحتوي على بويضات غير مجزئة، وتوجد منطقة هلالية في كل قطب .
5. تطفو في محلول ملحي مشبع .

وإذا كانت الأنثى غير مخصبة فإنها قادرة على إعطاء البيوض وتتميز البيوض غير المخصبة بالميزات التالية :

1. ضيقة وطويلة حيث يبلغ طولها 80 ميكرومتراً بعرض 55 ميكرومتراً .
2. لونها بني .
3. تمتلك قشرة رقيقة .
4. تحتوي على بويضة ضامرة صغيرة .
5. لا تطفو في المحلول الملحي لأنها أثقل بيوض الديدان المعوية .

ويمكن ملاحظة البيوض المخصبة وغير المخصبة في عينة واحدة من البراز .

دورة الحياة Life cycle :

تمر دورة حياة الدودة في عائل واحد ولا تحتاج إلى عائل وسيط والإنسان هو العائل الوحيد لأطوار هذه الدودة وهذه الأطوار هي :

1- البيوض في البراز : تخرج البيوض المخصبة مع البراز محتوية على بويضات غير مجزأة وعندما تخرج من الأمعاء لا تكون معدية للإنسان مباشرة .

2- تطور البيوض في التربة : تتطور اليرقة من البويضة غير المجزأة داخل قشرة البيضة خلال 10-40 يوماً ، وهذا يعتمد على درجة حرارة الجو والرطوبة ، ويحدث هذا في التربة

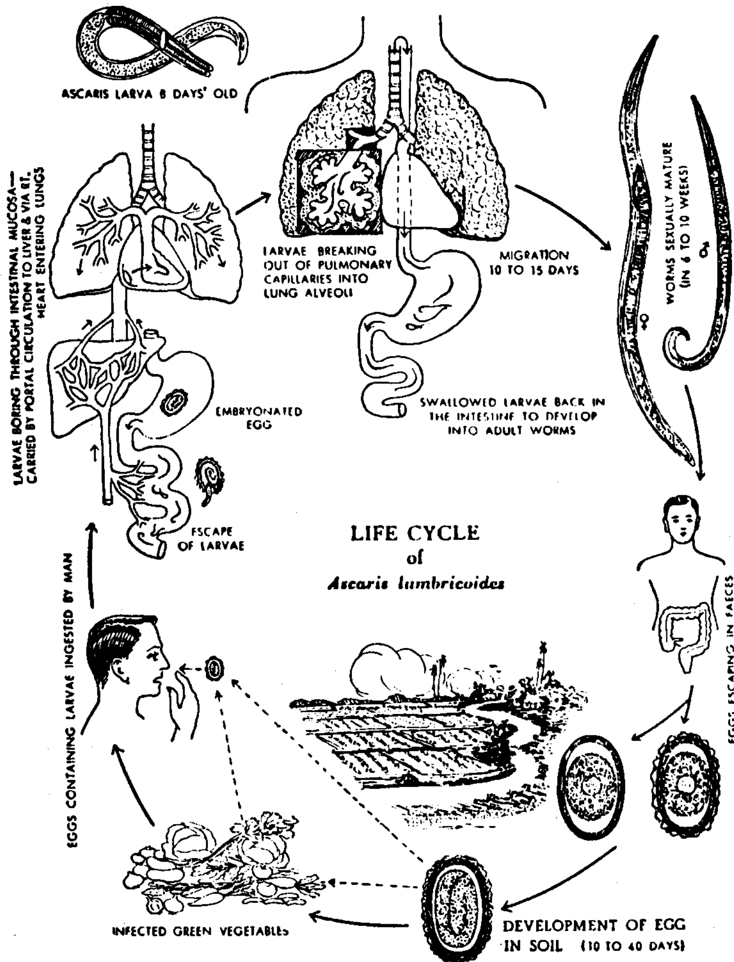
3- الإصابة بسبب إبتلاع وإفراز اليرقات : عند تناول البيوض مع الطعام والشراب أو الخضار النيئة تخترق البيوض إلى الأثنى عشر حيث تعمل العصارات الهاضمة على إضعاف قشرة البيضة وتحث اليرقة المخبأة على النشاط ، وإنفصال القشرة يؤدي إلى خروج اليرقات في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة .

4- انتقالها خلال الرئتين : إن اليرقات التي تخرج في الأمعاء الدقيقة لا تتحول مباشرة إلى دودة ناضجة ، إنما تخترق اليرقات الغشاء المخاطي للأمعاء ، وتنتقل بوساطة الدورة البابية (portal circulation) إلى خلايا الكبد ، وهنا تعيش لمدة 3-4 أيام ، وبعد ذلك تخرج من الكبد عن طريق الجهة اليمنى من القلب وتدخل الدورة الرئوية وأثناء وجودها في الرئتين تنمو وتكبر وتزداد في الطول من 0ر2 ملم -2 ملم وتكسر الشعيرات وتصل إلى الحجرات الهوائية في الرئة وتستغرق هذه الدورة 10-15 يوماً

5- إعادة الدخول إلى المعدة والأمعاء الدقيقة : ومن الحجرات الهوائية في الرئة تصعد اليرقات إلى الشعب الهوائية ثم القصبة الهوائية ، ويساعدها التيار الذي تسببه الخلايا

الطلائية المهدبة في القناة التنفسية وتُسحبُ إلى الحنجرة ثم البلعوم ، ويتم ابتلاعها مرة أخرى وتدخل إلى المريء والمعدة ثم تستقر في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة حيث مكان استقرارها الطبيعي .

6- النضوج الجنسي وتحرير البيوض : عند وصول اليرقة مكان نموها تتحول إلى دودة بالغة، وتصبح ناضجة جنسياً خلال 6-10 أسابيع وتبدأ الأنثى الحامل بإفراز البيوض في البراز خلال شهرين من بداية الإصابة . وهكذا تتكرر الدورة .



دور الحياة

الإصابة Pathogenicity :

يمكن أن تحدث الإصابة بسبب إبتلاع بيوض الأسكارس الناضجة مع الخضار النيئة المزروعة في التربة المخصبة بفضلات الإنسان المصاب، وكذلك من الماء الملوث ومن تلوث التربة حيث تنتقل مباشرة إلى الفم عن طريق الإصبع الملوث .

ويمكن أن تحصل الإصابة بتنفس الهواء المغبر المحمل بالبيوض الجافة التي تصل إلى البلعوم ويتم ابتلاعها . وبدلاً من أن يَبتلعٌ الإنسان البيوض فإنها تلتصق برطوبة السطح المخاطي للممرات التنفسية العلوية وتدخل اليرقات مباشرة إلى مجرى الدم .

وخلال هذه الدورة وخاصة انتقال اليرقات من الأمعاء إلى الكبد ثم الرئتين فإنه يكسب الجسم مناعة جزئية، ويمكن ظهور الحساسية عند عودة الدودة إلى الأمعاء مرة أخرى ، وتزداد الخلايا البيضاء الحامضية (Eosinophils)عند غزو الأنسجة .

الأعراض وكيفية حدوث المرض :

تسمى الإصابة بدودة الأسكارس Ascariasis، وتنقسم الأعراض إلى قسمين هما :

1-الأعراض التي تعزى إلى انتقال اليرقات : ففي الرئتين تظهر نفس أعراض التهاب الرئة من حرارة وسعال Cough وضيق تنفس Dyspnoea والبلغم Sputum الذي يحتوي على دم ويمكن أن يحتوي على اليرقات . ويمكن ظهور الطفح الجلدي وارتفاع في عدد الخلايا الحامضية Eosinophils أما على صعيد الدورة العامة فإنها إذا تمكنت من الاختراق لما بعد الشعيرات الرئوية فإنها ستصل إليهما، وبعد ذلك يتم وصولها إلى أعضاء مختلفة حيث تُظهر أعراضاً غير طبيعة وتظهر الاضطرابات نتيجة وجودها في الدماغ والحبل الشوكي والقلب والكلية .

2-الأعراض التي تعزى إلى الديدان البالغة : تبلغ فترة الحضانة من 60 – 75 يوماً من بداية التعرض للإصابة وحتى تضع الأنثى الناضجة بيوضها حين تظهر الأعراض . وطالما أن الدودة تقطن في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة فإنها ستؤدي إلى ظهور إضطرابات في القناة المعدية المعوية . حيث تؤدي إلى نقص في فيتامين (أ) الذي يؤدي إلى الإصابة بالعمى الليلي ، وتؤدي إلى سوء التغذية لأن جسمها سيحتوي على كميات كبيرة من البروتين . وعندما تفرز السموم ويمتصها الجسم إلى الدم فإنها ستؤدي إلى ظهور حمى مشابهة لحمى التيفوئيد . ويمكن أن تصل إلى المريء في الليل وتخرج عبر الفم والأنف ، ولذلك يمكن لها صدفة أن تدخل الممرات التنفسية لتسبب اختناق (Suffocation) بسبب إغلاقها للسان المزمار أو دخولها إلى الشعب الهوائية . ويمكن للإسكارس المتجولة أن تدخل إلى الزائدة الدودية وتسبب التهابها ، وعند دخولها إلى القناة المرارية فإنها تسبب اليرقان الناتج عن إغلاق هذه القناة ، وتسبب التهاب البنكرياس ، وأثناء وصولها إلى الكبد فإنها تسبب تقرحات هناك .



عدد كبير من الديدان يسبب إغلاقاً معوياً قاتلاً

التشخيص المختبري Lab. diagnosis :

وينقسم إلى قسمين هما :

1) الدلائل المباشرة :

أ. وتشتمل ذلك على وجود الديدان البالغة في :

1- البراز والقيء .

2- استعمال الأشعة للتشخيص .

ب. إيجاد البيوض في :

1- البراز .   2- الصفراء .

2) الدلائل غير المباشرة :

وتشتمل على فحص الدم للتأكد من نسبة الكريات الحامضية (Eosinophil) حيث ترتفع في المراحل الأولى للغزو .

العلاج (Piperazine Seit) :

وهناك أدوية خاصة للأسكارس كثيرة منها :

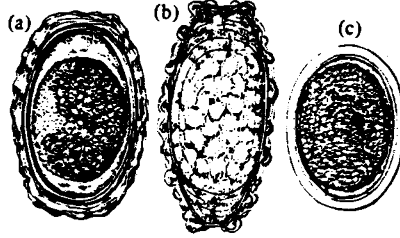
Teramisole ,   Hetrazan ,   Thiabendazole ,   Mebendazole ,

الوقاية :

1-التخلص من الفضلات بشكل صحي .

2-معالجة المصابين .

3-تثقيف الأطفال في المدارس عن العادات الصحية .



a- بيضة مخصبة بدون جنين

b- بيضة غير مخصبة

c- بيضة مخصبة بدون لحاء

Trichuris trichiuria

يطلق عليها اسم الدودة السوطية (Whip Worm) ، وتنتشر في جميع أنحاء العالم ولكنها تكثر في المناطق الحارة والرطبة ، وتقطن هذه الديدان في أمعاء الإنسان الغليظة خاصة المعي الأعور والزائدة الدودية .

الشكل Morphology :

يشبه شكل الدودة البالغة شكل السوط ويكون 5/3 الجزء الأمامي رفيعاً مثل الشعرة بينما 5/2 الجزء الخلفي يكون سميكاً وقوياً ويشبه يد السوط . وتعيش الدودة في الأمعاء الغليظة حيث تغمد الجزء الأمامي في الغشاء المخاطي . وتشتمل الزائدة الأمامية الرفيعة الشبيهة بالشعرة على المرىء الذي يمثل قناة رفيعة . بينما الجزء الخلفي السميك فيحتوي على الأمعاء والأعضاء التناسلية ، ويمكن للدودة البالغة أن تعيش في تجويف الأمعاء لعدة سنوات. يبلغ طول الذكر 3 – 4 سم ، وتكون نهايته الذيلية ملتفة بينما يبلغ طول الأنثى 4–5 سم والنهاية الذيلية تشبه حرف الوأو . أما البيضة فإنها تتصف بما يلي :



بيوض الدودة السوطية

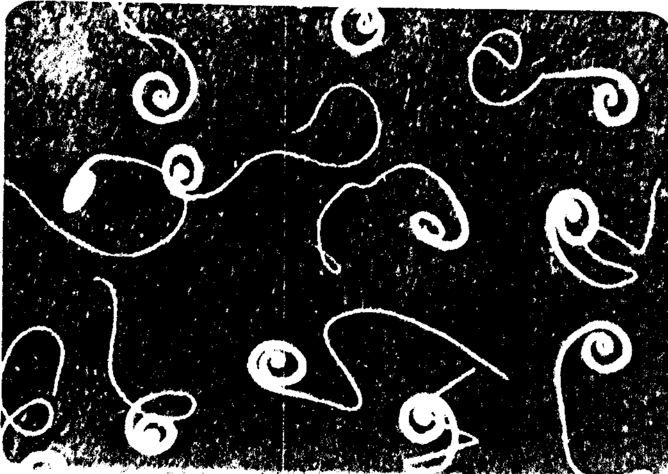
1. طولها 50 ميكرومتراً وعرضها 26 ميكرومتراً .
2. لونها بني وتحتوي على قشرتين حيث لون الخارجية بني .

3. شكلها يشبه شكل البرميل مع غطاء مخاطي على كل قطب .
4. عند تركها للإنسان فإنها تحتوي على بويضة غير مجزأة .
5. تطفو في محلول محلي مشبع .

عندما تخرج البويضة لتوها من الجسم لا تكون مضرة ومعدية .

دورة الحياة Life cycle :

تمر دورة حياتها في عائل واحد وهو الإنسان . تخرج البيوض مع البراز وتتطور ببطء في الماء أو الأرض الضحلة ، ويعتمد ذلك على الظروف البيئية . ففي المناطق المدارية تحتاج البيضة 3 – 4 أسابيع لتصبح يرقة بينما في الأجواء الأقل حرارة تحتاج 6 – 12 شهراً . وهذه البيوض المحتوية على الأجنة تكون معدية للإنسان ، ويصاب الإنسان من جراء تناول هذه البيوض مع الطعام أو الشراب ، حيث تتحلل قشرة البيضة بالعصارات الهاضمة ، وتخرج اليرقة من أحد قطبي البيضة . وتمر اليرقة إلى المعي الأعور حيث مكان الإستقرار وتنمو مباشرة إلى دودة ناضجة وتغمد جزءها الأمامي في الغشاء المخاطي للإمعاء . وتصبح الدودة ناضجة جنسياً خلال شهر من تناول البيوض ، وتبدأ الدودة الحامل بوضع بيوضها وتتكرر الدورة .



الإصابة Pathogenicity :

تسمى الإصابة بهـذه الـدودة Trichuriasis . لا تظهـر هـذه الديـدان أعراضـاً مرضيـة في العـادة ، ولكنهـا تدمـر الزائـدة الدوديـة مما تـؤدي إلى ظهـور أعـراض التهابهـا الحادة ، وفي الحالات الشـديدة يشـكو المريـض مـن ألم في البطـن ، وإسـهال مخـاطي مـع دم وفقدان من وزن الجسم وأحياناً يحدث تدلّ للمستقيم .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

ويتحقق ذلك بمشـاهدة البيـوض مجهريـاً في عينـات الـبراز بعمـل تحضـيرات رطبـة مباشرة بإستخدام محلول اليود أو المحلول الملحي وأحياناً يمكن أن توجد الدودة في البراز .

العلاج :

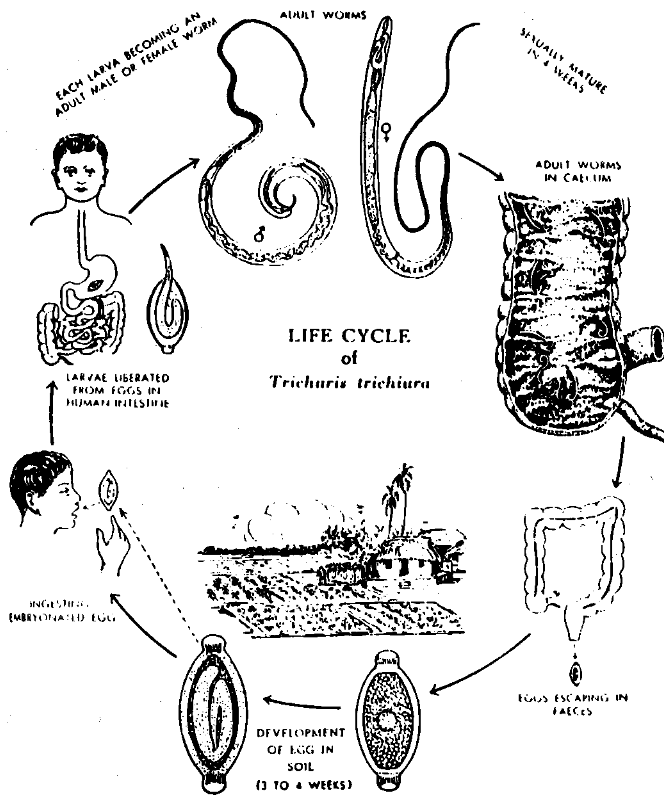
الادوية التالية تستعمل لهذه الحالة :

Stibazium iodine, Difetarsone, Thiabendazole, Mebendazole

الوقاية :

1-التخلص بطريقة صحية من فضلات الانسان .

2-عـدم تنـاول الخضـار غـير المطبوخـة والفواكـه المزروعـة في الحديقـة إلا بعـد تنظيفها جيداً .



دورة حياة الدودة السوطية

Trichinella spiralis

ويطلق عليها لقب الدودة شعرية الذيل اللولبية ، وتنتشر في أوروبا والولايات المتحدة . وتوجد كذلك في إفريقيا والصين وسوريا .

تبدأ حياتها كطفيل في الأمعاء ، وتبقى مدفونة في الغشاء المخاطي للاثني عشر والصائم الجزء الأول والثاني من الأمعاء الدقيقة حيث يتم بلوغ الدودة ، ولكن مكوثها هناك يكون لفترة وجيزة ، وتبدأ الأنثى المخصبة بإفراز أجنتها إلى الدورة الدموية حيث تتحوصل الأجنة في النهاية في داخل العضلات المخططة في الحيوانات التي تشكل عائلاً مثل الإنسان والخنزير والجرذان .

الشكل Morphology :

تعتبر الدودة البالغة أقصر دودة حبلية تصيب الإنسان . ويبلغ طول الذكر 1.4 – 1.6 ملم وعرضها 0.04 ملم ، وبينما يبلغ طول الأنثى من 3 – 4 ملم ، وعرضها 0.06 ملم .

يبلغ حجم اليرقة 100 × 6 ميكرومتر ، وتبقى متحوصلة في العضلات المخططة للعائل ، وفي داخل الحوصلة تستمر اليرقة بالتطور حتى مرحلة النضوج الجنسي وعند إتمام نموها بالكامل يصبح حجمها عشرة أضعاف حجمها الأصلي ، ويستغرق ذلك 35 يوماً ، وكل حوصلة عادة تحتوي على يرقة واحدة .

بعد أن يلقح الذكر الأنثى يموت ، وهذا يحدث بعد أسبوع من الإصابة ، وتموت الأنثى بعد 16 أسبوعاً ، وهذه المدة اللازمة لإفراز اليرقات . وغالبية اليرقات المتحوصلة في العضلات تموت خلال 6 أشهر ، ولكن يمكن لبعضها أن يعيش عدة سنوات (10 – 31 سنة) .

دورة الحياة Life cycle :

تمر دورة الحياة جميعها في حيوان واحد (الخنزير أو الجرذان أو الإنسان) ، ولكن تغيير العائل ضروري للمحافظة على النوع من الانقراض . وهكذا فإن الحيوان الواحد يقوم بعمل عائلين الرئيسي والوسيط ، ولذلك يظهر طورين في نفس العائل هما اليرقات المتحوصلة والديدان البالغة .

إن الدودة التي تستطيع الدخول للإنسان تكون غير قادرة على إتمام دورة الحياة. ولاستمرارية النوع تنتقل اليرقات إلى حيوان آخر ، ويعتبر الخنزير هو العائل الثانوي لهذه الدودة ، ويعتبر مستودعاً لإصابة الإنسان. وتنتقل اليرقات من خنزير إلى آخر ومن جرذان

إلى آخر، وتحـدث إصابـة العـائل الجديـد مـن خـلال تنـاول اللحـوم النيئـة المصابـة بـ *T. spiralis* والمحتوية على يرقات متحوصلة حية . ويمكن تلخيص عملية التطور بما يلي :

1-تبقى اليرقات متحوصلة في عضلات الجرذان وتؤكل من قبل جرذان آخر .

2-بعد أن تؤكل اليرقـات تتطـور إلى بالغـة في الأمعـاء خـلال 48 سـاعة وتصبـح الديـدان الذكرية والأنثوية ناضجة جنسياً ، ويتم الإخصاب ويموت الذكر بعد 24 ساعة بعدها تطلق اليرقات من قبل الدودة الأنثى .

3-تدخل اليرقات إلى مجرى الدم ويظهر التحوصل في العضلات ، وتتحول إلى ديدان بالغـة فقط عندما تؤخذ عن طريق حيوان آخر خنزيراً كان أم جرذاناً .

4-عندما يأكلها الخنزير تتكرر نفس عملية التطور ، ويستمر تحوصل اليرقات في العضلات .

5-يأكل الإنسان لحوم الخنازير المصابة بـ *T. spiralis* وتستقر في الجزء الأول والثاني مـن الأمعاء الدقيقة ، وخلال 5 – 7 أيام تصبح الدودة ناضجة جنسـياً ويمـوت الذكـر بعـد تلقيح الأنثى .

وتخترق الأنثى الناضجة جدار الأمعاء ، وتبـدأ بإعطـاء أعـداد كبـيرة مـن اليرقـات إلى الأوعية اللمفاوية أو الدموية ، وتستمر هذه العملية من 4 – 16 أسبوعاً أو مدى حيـاة الدودة الأم . وتموت الأنثى بعد وضـع حملهـا وتختـار اليرقـات العضـلات المخططـة لحياتهـا حيث تتم عملية التحوصل ، وتنتهي الدورة في الإنسان عند هذه النقطة .

الإصابة Pathogenicity :

ينتقل المرض إلى الإنسان من جراء تناول اللحوم المصابة النيئة أو غير الناضجة جيداً وتظهر الأعراض التالية :

1) مرحلة غزو الأمعاء :

وفترة حضانتها 5 – 7 أيام ، وخلالها تتحول اليرقة إلى دودة بالغة ، وتبدأ الأنثى بإفراز اليرقات في الأنسجة ، وتظهر أعراض اضطرابات في المعدة والأمعاء .

2) مرحلة انتقال اليرقات :

ويبدأ غزو العضلات بعد 7 – 10 من بداية المرض ، وتبدو على المريض حمى متقطة وبقع جلدية تسبب حكة ، ونزيف تمزقي Splinter haemrrhages ، وانتفاخ في جفن العين ، والتهاب حدقة العين Myositis ، ويمكن ظهور أعراض تنفسية والتهاب عضلات القلب وتغيرات عصبية بسبب غزو اليرقات ، وفي هذه المرحلة يمكن حدوث تسمم للدم يكون قاتلاً .

3) مرحلة التحوصل :

وتظهر هذه المرحلة في العضلات المخططة بينما في الأنسجة الأخرى تتحلل ويتم امتصاصها . ويمكن وضوح الأعراض بسرعة أو اختفائها تدريجياً عندما تبدأ اليرقات بالتحوصل ، ويمكن أن تسبب جرحاً دائماً .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

يمكن أن يكون التشخيص دقيقاً في حالة مشاهدة يرقات الدودة في العضلات من عينة ميتة Autopsy أو عينة حية Biopsy ، ويمكن عمل ما يلي :

1-فحص البراز لمشاهدة الديدان البالغة (وهذه نادرة) .

2-فحص الدم للتأكد من نسبة الخلايا الحامضية (Eosinophil) حيث تزداد نسبتها (15 – 50٪) .

3-إجراء الفحوصات المصلية .

4-أخذ عينة حية من العضلات ومشاهدة اليرقات .

5-التجربة الجلدية للأنتيجين المحضر من يرقات الدودة .

6-صور الأشعة إذا كانت الحوصلات قد تكلست .

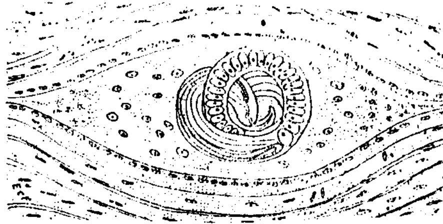
العلاج :

Thiabendazole هو أفضل علاج لهذه الدودة .

الوقاية :

1-التفتيش الدقيق على اللحوم في المسالخ .

2-تجنب أكل اللحوم النيئة أو غير المطبوخة جيداً .



الحوصلة في العضلة

Enterobius vermocularis

يطلق عليها اسم الديـدان الخيطيـة أو الديـدان الدبوسـية ، وتنتشـر في جميـع أنحـاء العالم ، وتقطن الدودة البالغة (الأنثى الحامل) في المعي الأعور والزائدة الدوديـة في الإنسـان حيث تبقى حتى تتطـور البيـوض ، وعـادة مـا تبقـى علـى سـطح الغشـاء المخـاطي وأحيانـاً تتحوصل في الغشاء شبه المخاطي .

الشكل Morphology :

بالنسبة للدودة البالغة ، فإنها صغيرة ولونها أبيض ، وشكلها مغزلي ، وتشبه قطعـة صغيرة من خيط . ويوجد في الذكر والأنثى تمدد مثل الجناح على الطرف الأمامي للدودة . والنهاية الخلفية للمريء تكون متوسعة ويحتوي المريء علـى انتفـاختين اثنـين . يبلـغ طـول الذكر 2 – 4 ملم وعرضها 0.1 – 0.2 ملم ، ومن النادر مشاهدة الدودة بإستثناء ما بعـد الشربة ، وعادة تموت الدودة الذكر بعد تلقيح الأنثى . ويبلغ طول الأنثى 8 – 12 مليمتراً وعرضها 0.3 – 0.5 ملم وبعد أن تضع الأنثى بيوضها تمـوت خـلال 2 – 3 أسـابيع . أمـا البيوض فتتميز بما يلي :

1-لا لون لها .

2-مفلطحة في أحد الجانبين ومحدبة في الجانب الآخر .

3-حجمها 50 – 60 × 30 ميكرومتراً .

4- تحاط بقشرة شفافة .

5-تطفو في محلول ملحي مشبع .

دورة الحياة Life cycle :

لا تحتاج إلى عائل وسيط ، وتحتوي البيوض علـى يرقـات تتطـور خـلال 24 – 36 ساعة في وجود الأكسجين . وتحدث الإصابة بتناول هذه البيوض . وتـذوب قشـرة البيضـة

بسبب العصارات الهاضمة ، وتهرب اليرقة إلى الأمعاء الدقيقة ، حيث تتطور إلى دودة مراهقة . وبعد نضوج الدودة جنسياً يلقح الذكر الأنثى ويموت ، وتنتقل الأنثى الحامل من الأمعاء الدقيقة إلى المعي الأعور والقولون (ويمكن إلى الزائدة الدودية) وتبقى هناك حتى تتطور البيوض .

وبعد ذلك تتحرك الأنثى المخصبة أو الملقحة إلى المستقيم ، وتأخذ طريقها إلى الشرج أثناء الليل لتضع بيضها على الثنايا الجلدية للشرج . وتتكرر الدورة . وتستغرق الدورة بكاملها من 2 – 4 أسابيع .

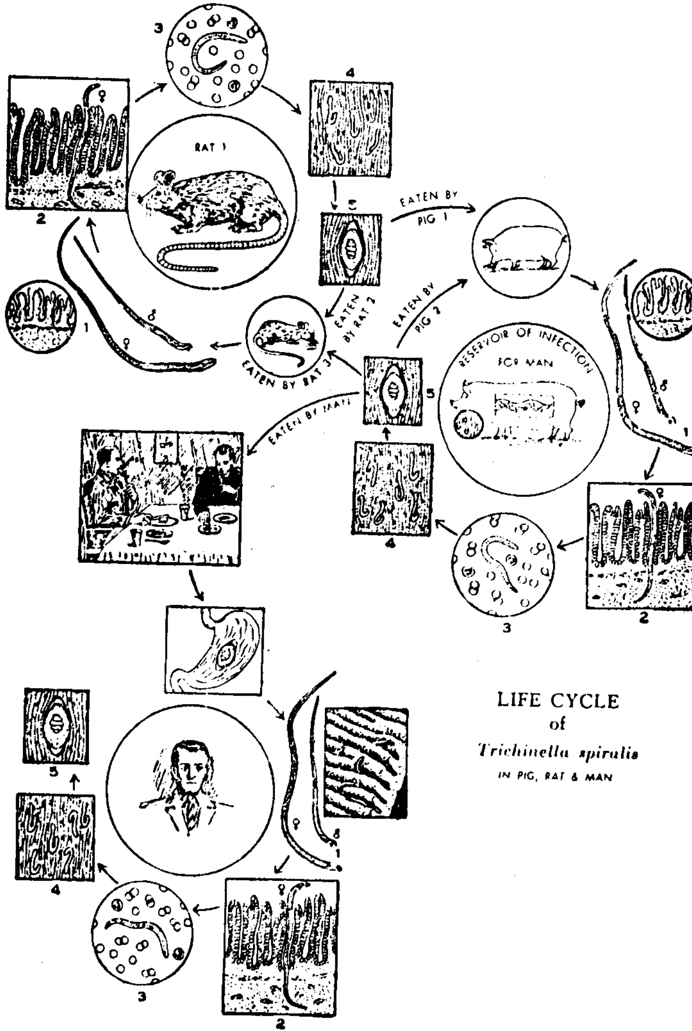
الإصابة **Pathogenicity :**

تسمى الإصابة بهذه الدودة **Enterobiasis** . يعتبر الأطفال أكثر ضحايا الإصابة بها . وتنتقل الإصابة من إنسان إلى آخر خلال ابتلاع هذه البيوض. ويمكن الإصابة الأولى أن تكون عدوى أو أن تتم بتناول الطعام أو الشراب الملوثين . فالشخص الذي يحمل ملابس النوم وغطاء السرير لمريض بالدودة يمكن أن يتصل بالبيوض ، ويصاب . وهناك إمكانية لحصول الإصابة من الهواء خاصة في المكان الموبوء .

ويمكن أن تكون الإصابة ذاتية فحركة الدودة تسبب حكة شرجية شديدة مما تثير المريض للحك وبذلك يحمل البيوض على إصابعه ، وقد تُلوث البيوض . الأكل وتبتلع بوساطة المريض نفسه أو أن الإصابة تنتقل نتيجة لوضع المريض إصبعة في فمه وهذه عادة شائعة بين الأطفال .

وتحدث الإثارة بسبب الأنثى الحامل حول الشرج ، ويمكن لأنثى الدودة المتنقلة أن تدخل إلى الجهاز التناسلي للأنثى المصابة ومجرى البول حيث تسبب التهابات فيهما . ويمكن هذه الديدان أن تدخل إلى تجويف البطن عبر انابيب فالوب . وتظهر على المريض الحكة

الشديدة وحالة الأكزما حول الشرج ، والتهاب قناة فالوب **Salpingitis** ، ويظهر تكرار التبول لدى المريض وفي بعض الحالات النادرة (2٪) يحدث التهاب الزائدة الدودية .



دورة الحياة

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

ويعتمد ذلك على وجود الدودة البالغة ومشاهدة البيوض، ويمكن مشاهدة الدودة البالغة إما بمشاهدتها من قبل المريض نفسه أو من قبل والدي الطفل . وإذا كان هناك ظهور أي ديدان بيضاء صغيرة في البراز فيجب على المريض أن يتناولها ويحفظها في 10٪فورمالين أو الكحول ويرسلها للفحص . ويمكن أن تخرج الدودة بعد تناول الشربة أو الحقنة الشرجية (Enema) ، وتفتيش منطقة الشرج بعد الحك يمكن أن يؤدي إلى العثور على الأنثى الحامل .

أما مشاهدة البيوض من عينة معوية فهذه حالة مستثناة، ولكن الفحص المجهري يمكن أن يكشف ذلك . ويمكن أخذ مسحة شرجية بماسحة (Swab) وفحصها مباشرة تحت المجهر ويفضل أخذ العينة في الصباح ، ويمكن مشاهدة البيوض في المادة الموجودة تحت الأظافر نتيجة الحكة أو في ماء غسيل الملابس . ومن الشائع استخدام تقنية الشريط اللاصق Scotch tape ويتم ذلك بلف الشريط اللاصق على خافض لسان خشبي بحيث تكون الجهة اللاصقة للخارج ويوضع على فتحة الشرج وينتقل إلى مواقع مختلفة ثم يثبت على شريحة زجاجية وتشاهد تحت المجهر. ويتم ذلك من خلال وضع الشريط على الفتحة الشرجية ، وتثبيته على الشريحة ، ثم فحصه مجهرياً .

الوقاية : وتشتمل على :

1. منع إعادة إصابة الإنسان المصاب ، أي منع العدوى الذاتية ، وذلك بتناول العلاج وعدم حك الشرج والنظافة الشخصية .
2. منع انتشار المرض ، وذلك بمعالجة حالات الإصابة مع تطبيق العادات الصحية .

Ancylostoma duodenale

وتسمى بدودة العالم القديم الكلابية (Hook Worm) ، وتنتشر في جميع البلدان المدارية وشبه المدارية . وتوجد في الأماكن الرطبة ذات الدرجة الحرارة المناسبة ، حيث الظروف ملائمة لتطور اليرقات في التربة . وتوجد كذلك في أوروبا وشمال إفريقيا والهند وسيلان ومنتصف شمال الصين .

تقطن الديدان البالغة في الأمعاء الدقيقة للإنسان خاصة في الصائم ، الجزء الثاني منها (Jejunum) ، وتوجد بشكل أقل في الإثنى عشر ، ونادراً في اللفائف ، الجزء الثالث من الأمعاء الدقيقة (Ileum) .

الشكل Morphology :

بالنسبة للدودة البالغة فهي صغيرة ، ولونها أبيض رمادي ، وأسطوانية الشكل ، وعندما تكون لتوها خارجة من الجسم يكون لونها بنياً محمراً ، بسبب وجود الدم في قناتها المعوية . ونهايتها الأمامية منحنية بعيدة عن المحور ، ولذلك جاء اسمها الدودة الكلابية .

ولها خمس غدد متصلة مع الجهاز الهضمي ، واحدة منها تسمى غـدة المريء ، حيث تفرز خميرة (أنزيماً) لمنع تجلط الدم . ويمكن التمييز بين الذكر والأنثى بسهولة بوساطة الحجم حيث إن الأنثى أكبر من الذكر ، وتمتد حياة الدودة البالغة في أمعاء الإنسان من 3 – 4 سنوات .

أما البيوض (Eggs) والتي تخرج مع البراز فإنها تتميز بما يلي :

1-بيضاوية أو دائرية الشكل يبلغ حجمها 65 × 40 مايكرومتراً .

2-لا لون لها .

3-محاطة بقشرة غشائية هلامية شفافة .

4-تحتوي على بويضة مقسمة وفراغ فاصل وواضح بين القشرة والبويضة المقسمة .

5-تطفو في المحلول المشبع بالملح .

تكون البيوض في البداية في طور عدم التقسيم ، وخلال مرورها في تجويف الأمعاء تبدأ مرحلة التقسيم ، وعند خروج البيوض مع البراز تكون غير معدية .

دورة الحياة Life cycle :

لا تحتاج هذه الدودة إلى عائل وسيط مثل بعض الديدان الأخرى ، ولا يظهر تكاثر الدودة داخل جسم الإنسان . ويعتبر الإنسان العائل الرئيسي أو النهائي للـ *A. duodenale* ، وتمر دورة حياتها في المراحل التالية :

1-خروج البيوض من العائل المصاب : تحتوي البيوض على بويضات مقسمة مع أربعة براعم ، و تخرج هذه البيوض من الإنسان مع البراز .

2-التطور في التربة : من هذه البيوض تخرج اليرقات إلى التربة خلال 48 ساعة وتخرج اليرقات مرتين في اليوم الثالث واليوم الخامس ، وتسمى عملية الطرح أو القذف الأولى والثانية ، ثم تتطور إلى يرقات فيلاريا Filariform حيث تكون أكبر حجماً

من سابقتها ، وهذه اليرقات هي التي تكون ضارة للإنسان . وتستغرق العملية من 8 – 10 أيام .

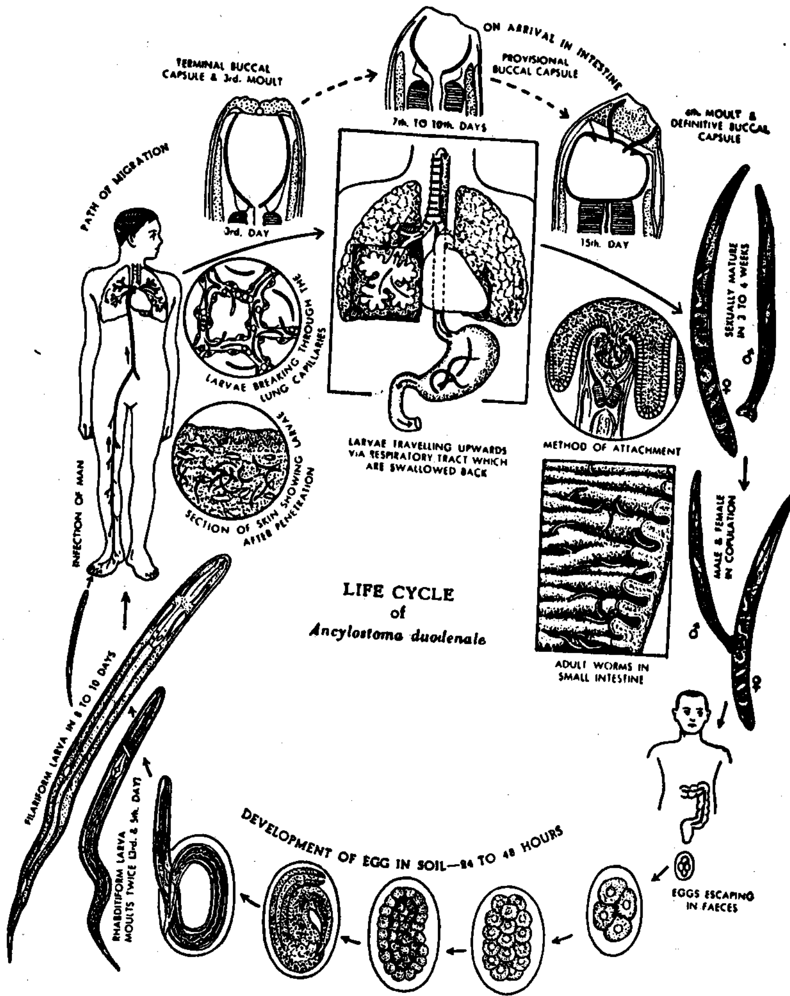
3-الدخول إلى العائل الجديد : تكون يرقات الفيلاريا معدية للإنسان فتنخلع اليرقة من غطائها وتدخل إلى الجسم باختراقها للجلد .

4-الانتقال : بعد وصول اليرقات إلى الأنسجة تحت الجلدية تدخل إلى الأنسجة اللمفاوية ، وتمر خلال الجهاز الوعائي اللمفاوي إلى الدورة الوريدية ، وتحمل بوساطة الجزء الأيمن من القلب إلى الشعيرات الرئوية حيث تكسر جدران الشعيرات وتدخل إلى فراغات الحويصلات الهوائية ، وبعد ذلك تنتقل إلى الشعب الهوائية ثم القصبة الهوائية فالحنجرة وتزحف حتى تصل إلى البلعوم ، وفي النهاية يبتلعها الإنسان . وخلال الإنتقال أو بعد دخولها إلى المريء تحدث عملية القذف الثالثة . وتستغرق هذه المرحلة (التنقل) مدة عشرة أيام .

5-الاستقرار ووضع البيوض : وتستقر اليرقة النامية في الأمعاء الدقيقة وتخضع لعملية القذف الرابعة وتتطور إلى دودة مراهقة ، وخلال 3 – 4 أسابيع تنضج جنسياً ، وتبدأ الأنثى الملقحة في وضع البيوض في البراز ، وهكذا تتكرر العملية . وتقدر الفترة الزمنية بين اليرقة عبر الجلد وبين أول ظهور للبيوض لها في البراز بحوالي 6 أسابيع .

الإصابة Pathogenicity :

وتتميز الإصابة بهذه الدودة الكلابية بفقر الدم . وتحدث الإصابة حينما يمشي الإنسان مكشوف القدمين على تربة ملوثة ، وتدخل يرقات الفيلاريا مباشرة إلى الجسم عبر الجلد الرقيق مثل بين الأصابع ، وظهر القدم ، وباطنه . ويمكن أحياناً حدوث الإصابة عن طريق شرب الماء الملوث باليرقات ، ولكن هذا الأسلوب غير شائع .



دورة الحياة لدودة الأنكلستوما

والتأثيرات المرضية التي تسببها يرقات الأنكلستوما هي :

أ- الجلد :

1-إصابة الجلد : وتحدث عند مدخل اليرقة وتتميز بالحكة .

2-الطفح الزاحف : الذي يحدث في الجلد بسبب تنقل يرقات الفيلاريا عبر الجلد لعدة أسابيع أو عدة أشهر مكونةً طفحاً أحمر مع حكة شديدة تؤدي إلى تكوين بثرة (Papule) .

ب- إصابة الرئتين :

وينتج عن ذلك التهابات في الشعب الهوائية ، ويحدث التهاب الرئة عندما تدخل اليرقات إلى الشعيبات الرئوية ، ثم إلى الحجرات الهوائية ، وفي هذه المرحلة يرتفع عدد الخلايا البيضاء الحامضية (Eosinphil) .

الإصابة Pathogenicity :

يحدث التأثير على الأمعاء الدقيقة الصائم (Jejunum) ، حيث تلتصق الديدان بالغشاء المخاطي ويؤدي إلى فقر الدم من نوع (Microcytic) و (Hypochromic) . ويعزى سبب حدوث فقر الدم إلى الدودة الماصة للدم ، ولكن هناك أسباب أخرى تؤدي إلى حدوث هذه الحالة وهي :

1-فقدان الدم المزمن : ويحدث ذلك بسبب إمتصاص الدم من قبل الدودة أو نزفه من موقع دخول اليرقة في الجلد ، وهذا يؤدي إلى فقدان الهيموجلوبين ، ثم إلى حالة فقر الدم .

2-التأثيرات الغذائية : وهذا بسبب نقص المواد الغذائية اللازمة لتكوين الدم مثل الحديد وغيره . ففقدان الدم عن طريق الديدان الماصة وعدم التعويض بتناول المادة الغذائية اللازمة يؤدي إلى فقر الدم ، وقد ثبت أن إعطاء الحديد لمرضى هذه الدودة أعطى نتيجة إيجابية .

الأعراض السريرية لفقر الدم الذي تسببه الديدان الكلابية :

1) الأعراض المعدية – المعوية : ويشتمل ذلك على سوء الهضم (Dyspeptic) المتحد مع اضطرابات معدية حيث تساعد على تكون قرحة في الإثني عشـر . ودلـت الفحوصـات بأن حامضية المعدة تنخفض في العادة . ومن المحتمل أن فقر الدم النـاتج عـن نقـص الحديـد يؤدي إلى نقص في إفراز حامض المعدة ، وتظهر على المريض أعراض الإمساك .

2) تأثيرات فقر الدم : يظهر الجلد شـاحباً، ويكـون أصفـر فـاتح . ويظهـر الشـحوب في الغشاء المخاطي للسان والعيون . أما الوجه فيظهر منتفخاً مع تورم في جفـن العـين السـفلي وتظهر وذمة oedema في القدم والكعب . ويكون المظهر العام للمريض شـاحباً وبطنـه بارزاً وشعره جافاً من دون لمعان . وتحدث في الأطفال إعاقة في النمو .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis

الطرق المباشرة

أ– فحص البراز : الفحـص بـالعين المجـردة ضـروري ، وذلـك لاحتماليـة وجـود الديـدان البالغة ، حيث من الممكن أن تكون قد خرجـت فجـأة . والفحـص المجهـري كفيـل بإظهـار بيوض الديدان الكلابية في البراز وذلك بعمل التحضيرات الرطبة المباشرة باستخدام المحلول الملحي أو محلول اليود .

ب– دراسة محتويات الإثني عشر : يمكن الحصـول علـى مـواد مـن الإثـني عشـر بإدخـال أنبوب وسحب محتوياته (Ryle's tube) ومشاهدة البيوض أو الدودة البالغة .

الطرق غير المباشرة :

أ– فحـص الـدم : ويجـري هـذا الفحـص لمعرفـة وجـود فقـر الـدم وعـدد الخلايـا البيضاء الحامضية .

ب– فحص عام للبراز : ويشـتمل ذلـك علـى إجـراء الكشـف عـن وجـود الـدم الخفـي (Occult blood) ، وعادة ما تكون النتيجة إيجابية (Positive) .

العلاج :

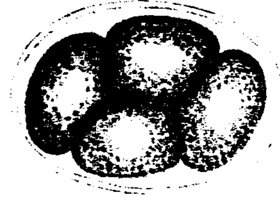
1) استعمال مضادات للديدان . 2) معالجة فقر الدم .

الوقاية :

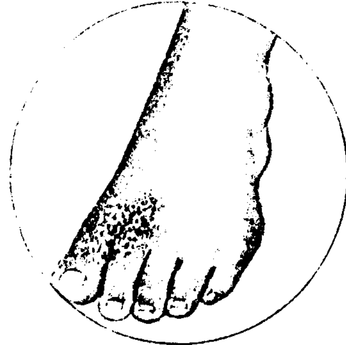
1-معالجة المصابين والحاملين للمرض .

2-منع تلوث التربة وذلك بمنع تسرب المجاري والفضلات إليها .

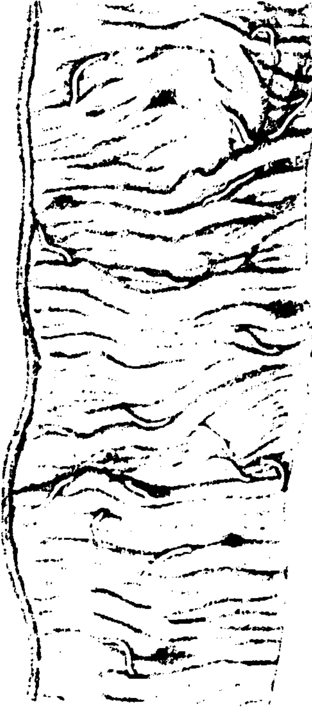
3-لبس الأحذية والقفازات Gloves الواقية عند التعامل مع مواد يشتبه بتلوثها .



بيوض الدودة



التهاب الجلد



الديدان داخل الأمعاء الدقيقة

Strongyloides stercoralis

تنتشر هذه الدودة في معظم دول العالم وبخاصة في البرازيل والشرق الأقصى وإفريقيا . وتقطن الدودة (الأنثى) في جدار الأمعاء الدقيقة للإنسان وخاصة في الاثني عشر ، والصائم الجزء الثاني من الأمعاء الدقيقة (Jejunum) ، ويمكن مشاهدتها مجهرياً من كشط للغشاء المخاطي للأمعاء (Scrapings of mucosa) .

الشكل Morphology :

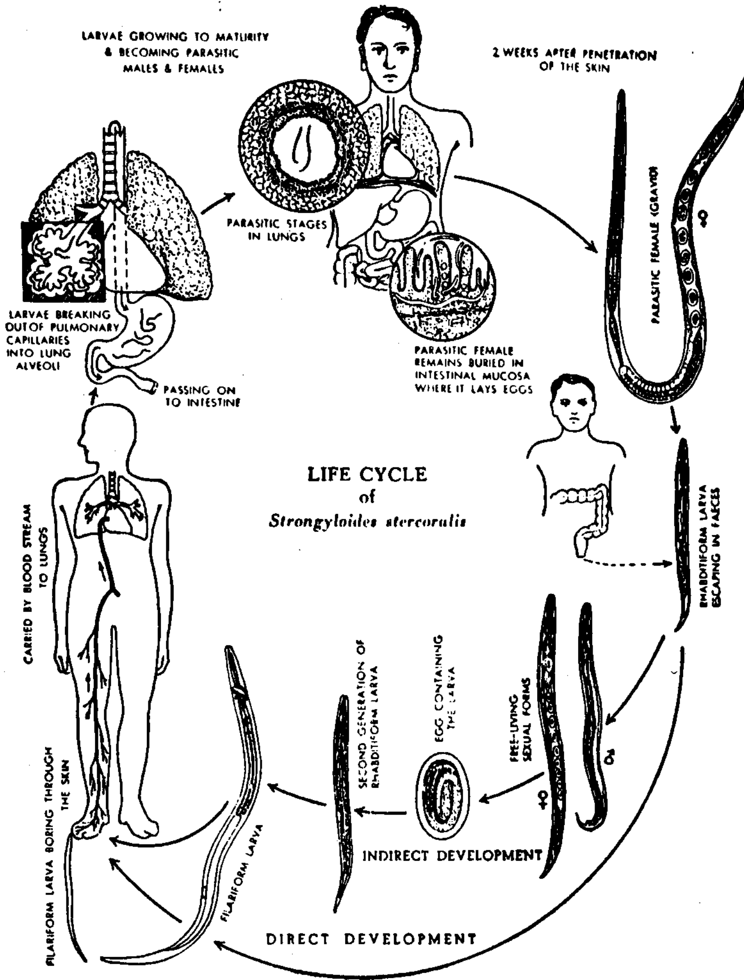
بالنسبة للدودة البالغة ، تكون الأنثى مكشوفة ، ومن النادر مشاهدتها وليس عندها القدرة على الاختراق وتبقى فقط في تجويف الأمعاء .

أما بالنسبة للبيوض فإنها توجد داخل جسم الأنثى الحامل ، ويبلغ حجمها حوالي 55 مايكرومتراً طولاً و30 مايكرومتراً عرضاً . وتحتوي على قشرة رقيقة وشفافة وبيضاوية الشكل . وتحتوي على يرقات جاهزة للتفقيس . وبمجرد استقرار البيوض تبدأ اليرقات بالخروج منها ، وتفتح طريقها من خلال الغشاء المخاطي إلى الأمعاء ، حيث تخرج مع البراز ، وهكذا فإن اليرقات تتواجد في براز الإنسان .

دورة الحياة Life cycle :

تحتاج هذه الديدان إلى عائل واحد فقط ، ولا تحتاج إلى عائل وسيط ، والعائل المطلوب هو الإنسان ، وتتم الإصابة بهذه الديدان بسبب اختراق اليرقات للجلد ، وتستقر في النهاية في الأمعاء والرئتين .

تغزو اليرقات الأنسجة وتدخل إلى الدورة الوريدية وتحمل بوساطة مجري الدم إلى الجزء الأيمن من القلب ، وبعد ذلك إلى الرئتين ، وتترك الشعيرات الرئوية وتدخل إلى الحجرات الهوائية في الرئتين ، وتذهب بعد ذلك إلى الشعب الهوائية والقصبة الهوائية فالحنجرة ، وبعد ذلك إلى البلعوم حيث يتم ابتلاعها ، وتدخل إلى القناة الهضمية فالأمعاء . وبعد الوصول إلى الإثني عشر والصائم الجزء الثاني من الأمعاء الدقيقة (Jejunum) ، فإنها تتطور إلى إناث متطفلة أو ربما ذكور وتدخل إلى تجويف الأمعاء عبر جدارها وربما يحدث اخصاب للإناث من قبل الذكور قبل دخولها إلى الأنسجة .



دورة الحياة

الإصابة Pathogenicity :

تسمى الإصابة بـ *S. stercoralis* بـ Strongyloidiasis ، ويمكن مشاهدة الحالات التالية :

1- إصابة الجلد Skin Lesion : وتظهر على شكل طفح جلدي مصحوباً بحكة شديدة في مكان الدخول ، وحكة شرجية شديدة بسبب خروج اليرقات .

2-الإصابة الرئوية Pulmonary Lesions : يحدث نزيف في الحجرات الهوائية والتهاب في الرئة والشعب الهوائية . ويتطور ذلك خلال مرور اليرقات عبر الرئتين حيث تصل إلى الحجرات الهوائية .

3-الإصابة المعوية Intestinal Lesions : يحدث إسهال مصحوباً بدم ومخاط ، ويحدث ذلك بسبب الحركة الآلية لأنثى الدودة .

4-تغيرات في الدم Blood Changes : وتظهر زيادة في عدد الخلايا الحامضية (Eosinophiles) وزيادة طفيفة في مجموع الكرات البيضاء خلال مرحلة الغزو .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

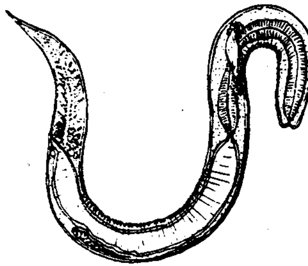
يمكن تشخيص الحالة بمشاهدة اليرقات في عينة من البراز الطازج ، وارتفاع عدد الخلايا الحامضية (Eosinophiles) يمكن أن يكون ذا أهمية تشخيصية ، وفحص البلغم (Sputum) يمكن أن يظهر اليرقات في حالة الإصابة الرئوية . تخضع عينتا البراز والبلغم لعمل التحضير الرطب باستخدام المحلول الملحي وتفحص مجهرياً لمشاهدة اليرقات .

الوقاية :

نفس طرق الوقاية من دودة الأنكلستوما .

العلاج :

Thiabendazole .



يرقة حديثة للدودة الخطافية من جنس

Strongyloides

Wuchereria bancrofti

Bancroft's Filaria

تنتشر هذه الدودة في المناطق المدارية ، وشبه المدارية ، حيث تظهر في الهند ، وشمال الصين ، واليابان ، وجزر الباسفيك وغرب ووسط إفريقيا ، وجنوب امريكا .

تقطن الدودة البالغة في الأوعية اللمفاوية والعقد اللمفاوية للإسان .

الشكل Morphology :

الدودة الناضجة :

ديدان طويلة رفيعة مثل الشعر ، شفافة ، أسطوانية ذات لون كريمي إلى أبيض ويشبه شكلها شكل الخيط ، ويبلغ طول الذكر 2.5 – 4 سم ، وعرضه 0.1 ملم ، ذات ذيل منحن . أما الأنثى فطولها 8 – 10 سم ، وعرضها 0.2 – 0.3 ملم ، وذيلها ضيق ، وتضع الأنثى الأجنة النشيطة التي يمكن اعتبارها بيوضاً محتوية على أجنة متطورة تماماً .

يبقى الذكر ملتفاً مع الأنثى ، ويكون من الصعب فصلهما عن بعضهما البعض ، والعادة أن عدد الإناث أكبر بكثير من الذكور ، ولذلك يصعب العثور على الأخير ، ويبلغ عمر الدودة 5 – 10 سنوات .

الأجنة Microfilariae :

تمر عبر العقد اللمفاوية ، وتدخل إلى مجرى الدم ، وتتصف بأنها نشيطة جداً لدرجة قدرة تحركها باتجاه وعكس تيار مجرى الدم . وعند مشاهدتها دون صبغة تظهر

كجنين لا لون له ، على شكل أجسام شفافة ، ذات ذيل مدبب ورأس غير حاد ، وعندما تكون ميتة وملونة بصبغة Romanowsky's تظهر واضحة بكل مكوناتها الداخلية .

دورة الحياة Life cycle :

تمر دورة حياتها عبر عائلين ، هما : الإنسان كعائل نهائي ، والبعوض كعائل وسيط .

1) العائل النهائي :

وهو الإنسان ، بحيث تدخل وتقطن الدودة الناضجة في الأوعية اللمفاوية ، بإخراج الأجنة (Microfilaria) والتي تجد طريقها إلى مجرى الدم . وتكون الأجنة قادرة على العيش في الدم الطرفي لوقت طويل دون أن تحدث لها أية تغيرات تطورية . وبعد ذلك يتم أخذها من خلال لدغة البعوض أثناء امتصاصها لوجبة دم .

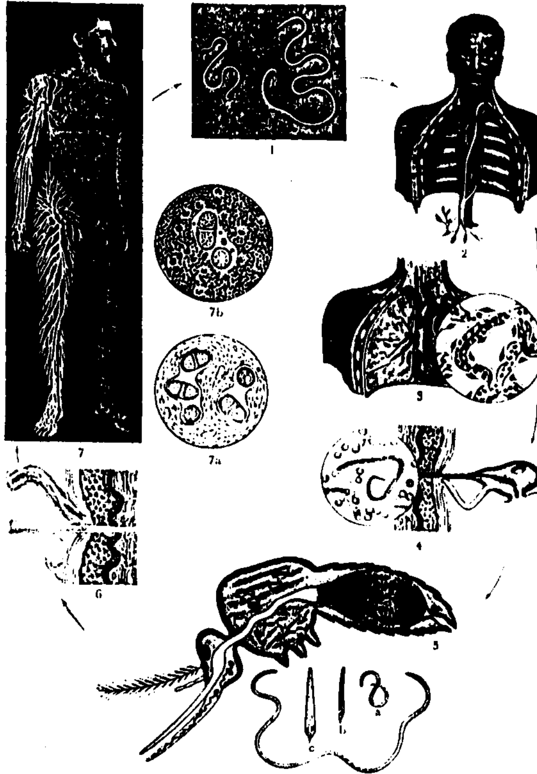
2) العائل الوسيط :

وهو البعوض وبداخله تخضع الأجنة إلى تغيرات وتطورات كبيرة ، حيث تصبح في النهاية معدية للإنسان ، ويمكن أن يكون البعوض من نوع Anopheles أو Culex أو Aedes .

عند تناول البعوضة لوجبة الدم من الإنسان المصاب ، تستقر الأجنة في العضلات الصدرية ، وتبدأ في النمو . وبعد ذلك بيومين تبدأ الجرثومة الشبيهة بالافعى الدائرية بالسماكة والقصر وهذا هو الطور الأول من اليرقة (First Stage Larvae) ، وبعد ذلك بحوالي خمسة أيام (3 – 7 أيام) تنمو اليرقة بسرعة ، وهذا الطور الثاني لليرقة ، وبعد ذلك بـ 3 – 4 أيام ، يبدأ التغير الإنسلاخي ، ويصبح كاملاً . يتميز هذا الطور بضمور الذيل والجهاز الهضمي وتجويف الجسم والأعضاء التناسلية ، وهذا ما يسمى بالطور الثالث

لليرقة . وهذا الطور يكون معدياً للإنسان وتستغرق الدورة داخل البعوضة 14 يوماً . ويجب العلم بأن كل جنين يؤدي إلى تكون يرقة واحدة .

وعند لدغ البعوضة المصابة للإنسان السليم ، فإن الطور الثالث لليرقة لا يدخل مباشرة عبر الثقب إلى مجرى الدم ، وإنما تضعه البعوضة على الجلد بجانب الثقب ، وبعد ذلك تنجذب اليرقة لسخونة الجلد ، وتدخل اليرقة عبر الثقب أو تخترق الجلد ، وتصل إلى القنوات اللمفاوية وتستقر في بعض المناطق ، وتبدأ بالنمو حتى تصبح ناضجة . وبعد 5 – 8 أشهر تصبح ناضجة جنسياً حيث يخصب الذكر الأنثى ، وتبدأ الأنثى بإنتاج الأجنة حيث تدخل إلى القناة الصدرية ، أو إلى القناة اللمفاوية اليمنى حتى تصل إلى الدورة الدموية ، وفي النهاية إلى الدورة الطرفية ، وهكذا تتكرر الدورة .



دورة الحياة

الإصابة Pathogenicity :

تسمى الإصابة بهذه الدودة بالفيلاريا Filariasis أو Wuchereriasis ، وتنتج الإصابة من تأثير الدودة الناضجة حية كانت أم ميتة . إن دوران الأجنة في الدم قد لا ينتج الحالة المرضية باستثناء الفيلاريا الخفية . حيث تصيب العقد اللمفاوية ، وكذلك الرئة والكبد والطحال . تفرز اليرقات النامية مواد تؤدي إلى حدوث بثور حكاكة مؤلمة وحمراء في الأطراف مع تضخم في الأوعية اللمفاوية .

أعراض الفيلاريا (التقليدية) :

1. أعراض التهابية مثل الحمى مع التهابات في الأوعية اللمفاوية .
2. توسع في الأوعية اللمفاوية .
3. تفجر الأوعية الدموية الصغيرة .
4. تضخم في مناطق مختلفة من الجسم مع تصلب فيها Elephantiasis .
5. التهابات بكتيرية ثانوية مثل تعفن الدم والتهاب الأوعية اللمفاوية .

وتشتمل التهابات واضطرابات الأوعية اللمفاوية على الأوعية اللمفاوية في الخصيتين والبربخ ولمفاويات البطن والأوعية اللمفاوية للأطراف العلوية والسفلية .

التشخيص المخبري Lab. diagnosis :

1) الدلائل المباشرة ، وتشتمل على مشاهدة :

أ- الأجنة Microfilaria في كل من العينات التالية : الدم الطرفي ، والبول الكيلوسي (بول يحتوي على دهون وبروتين وقليل من الخلايا الحمراء والخلايا اللمفاوية بالإضافة إلى أجنة الدودة) . وإفرازات الأوعية اللمفاوية للأوردة المتوسطة (الدوالي) وسائل ما حول الخصيتين Hydrocele Fluid .

ب- مشاهدة الديدان البالغة بألاشعة السينية بعد تكلسها وعينات حية من العقد اللمفاوية .

2) دلائل غير مباشرة :

أ- نسبة الخلايا الحامضية .Eosin ويصل إلى 5 - 15٪ .

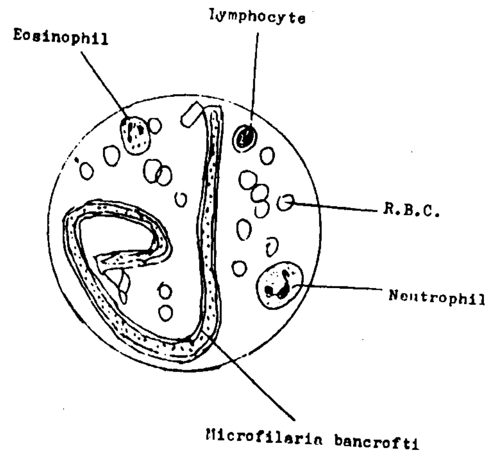
ب- فحص تثبيت المكمل .C. F. T .



الوقاية :

1. القضاء على البعوض .
2. معالجة حالات الإصابة .
3. منع لدغ البعوض .

فهرس يوضح أرقام وأسماء البكتيريا حسب نظام API



مايكروفيلاريا مصبوغة بصبغة ليشمان



مايكروفيلاريا تحت المجهر بالتحضير الرطب

الطرق المتبعة في فحص عينات البراز

1) ملاحظة الصفات الظاهرية للعينة :

قبل الشروع بفحص عينة البراز مجهرياً يجب أخذ الملاحظات الظاهرية التالية :

أ. التأكد من لون البراز وتسجيل ذلك ، فاللون الطبيعي للبراز هو البني الفاتح ، وقد يتلون البراز بلون آخر تبعاً لنوع المواد الغذائية المتناولة مثل اللون الأسود ، أو قد يتناول الإنسان أنواعاً من الأدوية قد تلون البراز بألوان مختلفة عن اللون الطبيعي .

ب. ملاحظة قوام العينة ، وتسجيل ذلك ، فقد تكون العينة متصلبة **Solid** وقد تكون سائلة **Liquid** ، وقد تكون بين حالة الصلابة والسيولة **Soft** . فالبراز الصلب يدل على حالة الإمساك ، والبراز السائل يدل على الإسهال ، والبراز اللين هو القوام الطبيعي .

ج. ملاحظة وجود أجسام غريبة مثل بعض الديدان أو بعض قطعها .

د. ملاحظة وجود الدم في العينة ، وهذا يضفي على العينة لوناً أحمر ، واللون الأحمر قد يكون صافياً ، وهذا يدل على وجود جرح بالقرب من المستقيم ، وقد يكون اللون الأحمر قاتماً ، وهذا يدل على وجود نزف بعيد عن الشرج ، وقد يتلون بالسواد بفعل العصارات الهاضمة ، سواء المعدية أو المعوية .

2) حفظ العينات ونقلها :

في حالة عدم إمكانية فحص العينة فور جمعها أو بعد جمعها بمدة لا تزيد عن نصف ساعة إلى ساعة كحد أعلى خاصة العينات السائلة، يجب عمل شريحة دائمة بالطريقة التالية : يحضر معلق لعينة البراز مع محلول ملحي **Saline** ، وتؤخذ قطرة من هذا المعلق وتوضع على شريحة زجاجية نظيفة ، وتغطى بغطاء الشريحة ، ويحاط غطاء الشريحة بمادة شمعية أو دهنية مثل الشمع أو الفازلين أو الـ **Canada balsam** بحيث توفر هذه الخطوة الرطوبة

لفترة طويلة للعينة تحت غطاء الشريحة ، أما إذا كانت العينة صلبة ، ويراد حفظها فإنها تحفظ إلى اليوم التالي بوضعها في صندوق ثلجي أو في الثلاجة ، ويجب أخذ الحيطة في عدم تسخين العينة تحت أي ظرف ، والأفضل من هذا وذلك ، هو الإسراع في فحص العينة ، والتخلص منها ، وإذا أريد حفظ العينة بعد الفحص خاصة إذا احتوي على حوصلات الأوليات أو بيوض الديدان ، فيمكن حفظها في قنينة تحتوي على 10٪ من محلول الفورمالين . بينما إذا احتوت على العينة على الأوليات في طور الحركة ، فلا يمكن حفظها لأكثر من ساعة إلى ساعتين في حدها الأعلى .

3) الأوعية التي تجمع فيها العينات :

يجب توفر الحاويات المناسبة من حيث الحجم والنوع والتكلفة ، ويمكن أن تستخدم حاويات زجاجية مع غطاء معدني أو بلاستيكي ، ويمكن أن تكون الحاوية مصنوعة من كروتون مقوى يحتوي على طبقة جيلاتينية أو شمعية في الداخل حتى لا تسمح بخروج السوائل خارج الحاوية بالترشيح ، وأفضل حاوية يمكن استخدامها هي الحاويات البلاستيكية مع غطائها ، والتي تستعمل لمرة واحدة ، ثم يتخلص منها ، فهي حافظة للعينة ورخيصة التكاليف .

يمكن استخدام مثل هذه الحاويات لجمع عينات من البراز والبول والبلغم أما عينات الدم فيمكن جمعها في أنبوب اختبار زجاجي نظيف . أو يمكن نقل الدم مباشرة من الإصبع إلى الشريحة .

4) الطرق المتبعة في التشخيص المخبري :

أ- البراز : وتشمل هذه الطرق على :

1. التحضير الرطب (المباشر) **Wet (Direct) Preparation** .

2. طريقة التركيز **Concentration technics** وتشمل :

أ. الترسيب Sedimentation ، وتتفرع إلى :

1. الترسيب البسيط Simple Sedimentation .

2. الترسيب بالطرد المركزي Centrifugal Sedimentation .

ب- البول : وتشتمل هذه الطرق على : طريقة التركيز ، وذلك بالترسيب مستخدمين جهاز الطرد المركزي .

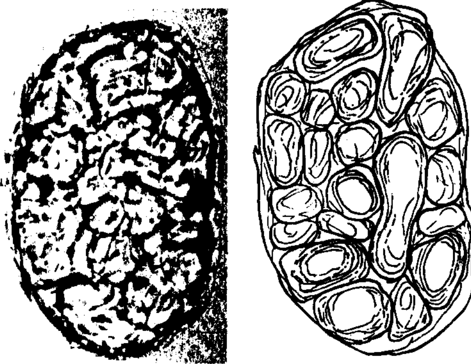
جـ- البلغم : وتستعمل لفحصه الطريقة المباشرة ، وطريقة الترسيب بالطرد المركزي .

د- الدم : تحضير الفيلم الرقيق Thin ، والسميك Thick .

الأشياء الطبيعية التي تشاهد مجهرياً في عينة البراز

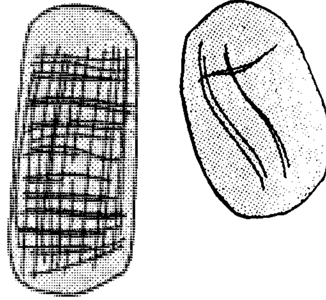
1- حبيبات النشا النباتية :

دائرية أو بيضاوية أو طولية ذات فجوة خشنة ، وجدارها الخارجي غير منتظم في العادة ، ومحتويات الفجوة غير منتظمة ، لونها أبيض إلى رمادي مصفر ، ومع اليود يصبح اللون بنفسجياً ، وتحتوي هذه الأجسام على نشا مغلق بالكامل ، وهذه الحبيبات تكون بقايا نشا الطعام مثل البطاطا والحبوب .



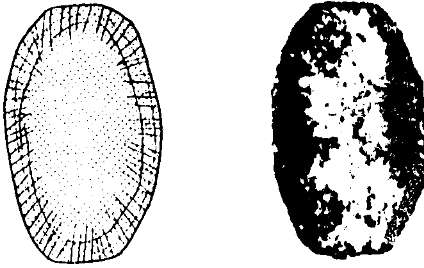
2- ألياف لحمية مهضومة :

أجسام بيضاوية الشكل ، أو بزوايا قوائم مع ركن دائري ، ولون أصفر ، لا تحتوي على شيء في الداخل ، مثل حبيبات أو غيرها .



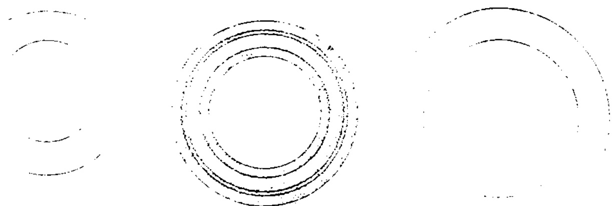
3- صابون :

أجسام بيضاوية أو دائرية غير منتظمة ، مثل مقطع من جذع شجرة لونها بني إلى أصفر أو دون لون ، تحتوي في الداخل عل خيوط مرتبة مثل الأشعة ، ومرئية بالقرب من الحافة ولا شيء في المركز .



4- فقاعات هواء أو قطرات زيت :

أجسام متغيرة الحجم ، شكلها دائري تماماً مثل الحلقة المستديرة ، تحتوي على طبقتين في حالة الهواء ، وواحدة في حالة الزيت ، لا تحتوي على شيء في المركز .



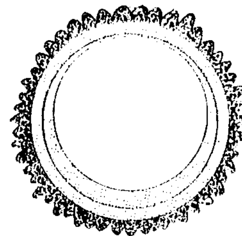
5- شعر نباتات :

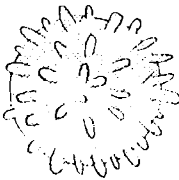
أجسام متغيرة في الحجم ، صلبة منحنية في الغالب ، عريضة ومقطوعة مـن إحـدى النهايتين ، والنهاية الثانية مدببة ، لونها أصفر فاتح ، وفارغة في الداخل .



6- أبواغ فطرية وحبات الغبار :

أجسام متغيرة بتغير المكان والغذاء ، مستديرة أو منشارية ، يمكن تمييزها عن البيوض .

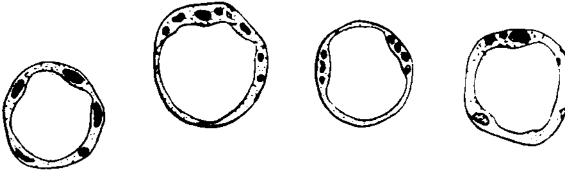




أشياء مشابهة للحوصلات :

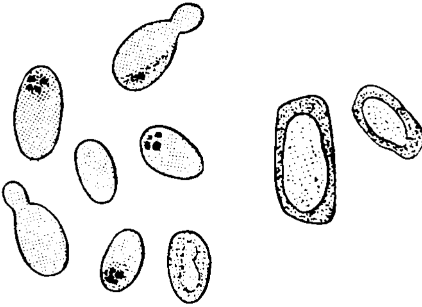
7- Blastocystis :

خلايا دائرية أو بيضاوية الشكل تحتوي على فجوة واحدة كبيرة تشغل معظم الخلية ، وتشكل حافة السيتوبلازم حلقة متحببة حولها ، عند صبغها باليود تبقى الفجوة دون صبغ ، وتظهر الحافة باللون الأصفر الشاحب



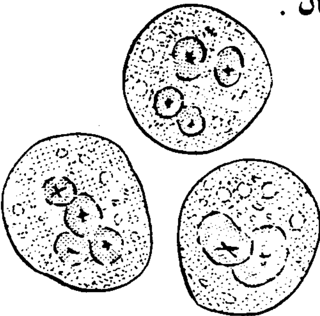
8- الخمائر :

صغيرة بيضاوية تتواجد عادة مع براعم وتحتوي في الداخل على حبيبات مثل العنقود تتلون باللون البني المحمر مع محلول اليود .



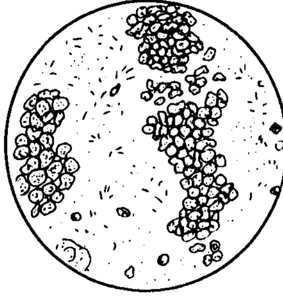
9- خلايا بيضاء :

دائرية أو مستطيلة قليلاً بحافة غير منتظمة ، ذات سيتوبلازم متحبب مع فجوات صغيرة وأنوية غير واضحة ، وعلى شكل النجم في بعض الأحيان .



10- الخلايا القيحية (الصديدية) :

خلايا دائرية ذات حافة غير منتظمة مليئة بالحبيبات داخل السيتوبلازم ، وتعتبر خلايا بيضاء ذات طبيعة متغيرة .



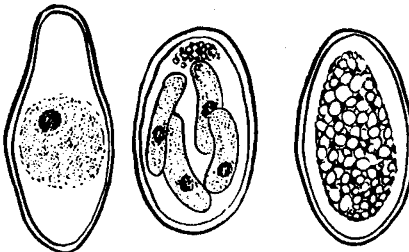
11- Coccidia :

عبارة عن خلايا أولية قد تكون متطفلة على الإنسان غير ضارة به ، أو ربما تكون موجودة عرضياً في البراز بعد تناول أطعمة مصابة ، مثل لحم الأرانب والسمك ، تظهر في البراز على شكل الحوصلة ، وتسمى Oocyst أو Sporocyst ، شكلها بيضاوي أو مستطيل ، وفي بعض الأحيان يكون شريطياً عند إحدى النهايتين. شفافة دون لون أو لونها أصفر شاحب، ذات جدار مزدوج شفاف واضح المعالم ، وبالنسبة للمحتويات تنقسم إلى :

أ. خلية تحتوي على Sporozoite 4 (عبارة عن أجسام تشبه الموز الصغير) ، وكل واحدة تحتوي على نواة صغيرة مستديرة ، وأحياناً حبيبات كبيرة قليلاً في أحد القطبين .

ب. خلية محتوية على حبيبة واحدة كبيرة .

ج. خلية محتوية على حبيبات كثيرة .



التحضير المباشر (الرطب)

Wet Preparation or Direct (Unpreserved Film)

قبل تحضير الشريحة للفحص المجهري ، يجب فحص العينة ككل بـالعين المجـردة مـن حيث القـوام ، ومحتوياتها الظـاهرة واللـون مثـل الـدم والمخـاط وبعـض بقايـا الطعـام غـير المهضومة ثم النظر إلى الطفيليات التي ترى بـالعين المجـردة مثـل الديـدان الشـريطية Tape Worms والديدان الأسطوانية Round Worms ، ثم بعد أخـذ جميـع هـذه الملاحظـات نبدأ بتحضير الشريحة بالطريقة التالية :

1. خذ شريحة زجاجية نظيفة وغطاءين لها .
2. حضر المحلول الملحي Normal Saline ومحلول اليود .
3. إقسم الشريحة إلى قسمين متساويين بالنظر .
4. ضـع قطـرة مـن محلـول اليـود علـى أحـد القسـمين وقطـرة مـن المحلـول الملحـي علـى القسم الثاني .
5. بوساطة العود الخشبي Wood - Stick أنقل جزءاً صغيراً جداً من العينة المراد فحصها إلى كل من المحلولين الموضوعين على الشريحة .
6. إمزج العينة المضافة إلى المحلولين مزجاً جيداً وبلطف .
7. ضع غطاء الشريحة علـى كـل مـن المعلقـين بحيـث لا تـترك فقاعـات هـواء ظـاهرة تحـت الغطاء ، وغير محتوية على فضلات ظاهرة .
8. ضع الشريحة على المجهر واستعمل العدسة 10 ثم 40 .

بالنسبة لاستعمال المحلول الملحي فيستفاد منه في دراسة الطفيليات الحية مثل الطور المتحـرك في الأوليـات Protozoal Trophozoite ، ويرقـات وبويضـات الطفيليـات

الأخرى ، بينما التحضير الثاني وهو باستعمال محلول اليود فإنه يستخدم في دراسة الأشكال التشخيصية لحوصلات الأوليات Protozoal Cysts .

طريقة التركيز Concentration Technic :

توجد طريقتان لعمل هذه التقنية وهما :

1) الترسيب Sedimentation :

يمكن تحقيق ذلك بوساطة إضافة عينة البرر إلى الماء العادي (ماء الحنفية) ، والسماح لها بالرسوب الطبيعي ، أو يمكن تحقيق ذلك باستعمال جهاز القوة الطاردة المركزية . تستخدم هذه التقنية في تركيز حوصلات الطفيليات الأولية ، وبيوض الديدان أو يمكن استخدام محلول ملحي Saline لتركيز وترسيب الأميبا المتحركة Amebic Trophozoite بوساطة جهاز القوة الطاردة المركزية ، بحيث تبقى هذه الطفيليات محافظة على حيويتها :

أ- الترسيب البسيط Simple Sedimentation .

ب- الترسيب بالطرد المركزي Centrifugal Sedimentatian .

تستخدم هذه الطريقة في تركيز الحوصلات والبيوض ، وكذلك إذا استخدم المحلول بدلاً من ماء الحنفية ، فإنه من المؤكد أن التركيز سيشتمل على الأميبيا المتحركة Amebic Trophozoite كذلك .

يؤخذ 2 – 3 جرام من عينة البراز ، وتمزج جيداً مع 20 ملم وتُنقى بوساطة مرور المحلول عبر قطعة قماش لتصفيتها من الشوائب والفضلات ، وتُنقل العينة بعد التصفية إلى قارورة زجاجية نظيفة أو أنبوب اختبار وتوضع في جهاز الطرد المركزي Centrifuge

وعلى سرعة 1500 – 2300 دورة في الدقيقة الواحدة rpm ، ولمدة دقيقة – دقيقتين . وبعد ذلك يُتخلص من الطافي .

يضاف ماء مرة أخرى ويمزج الراسب بالماء المضاف ويرسب على جهاز الطرد المركزي مرة أخرى ، وهكذا تُعاد العملية ويُمزج حتى يصبح الطافي صافياً ، ومن الناحية العملية ، فإن غسل العينة وترسيبها مرتين إلى ثلاث مرات يعطي نتائج مرضية ، يمكن إضافة محلول الفورمالين Formalin لتثبيت البيوض خاصة وحفظها ، ويمكن استخدام الأيثر Ether لإزالة الدهن والزيت .

تمزج عينة البراز مع محلول الملح Saline حتى تصبح العينة مساوية 10 – 12 مللتراً وتصفى باستعمال شاش طبي في أنبوب زجاجي نظيف ، وبعد ذلك ترسب العينة على جهاز الطرد المركزي ، ويتم التخلص من الطافي ويغسل الراسب ويلف مرة أخرى ، وبعد ذلك يمزج الراسب مع 10 ملل من 4٪ من محلول Formaldehyde .

ويسمح لها بالمكوث على الطاولة لمدة 5 دقائق ، وبعد أن يكون قد أضيف 3 ملم من محلول الأيثر ، ويكون قد حرك الخليط تحريكاً جيداً ، وبعد ذلك يمكن أن ترسب العينة مرة أخرى ، ويتلخص من الطافي ، وتحضر شريحة من الراسب باستعمال قطرة من 2٪ من محلول اليود ، وتغطى بغطاء شريحة نظيفة ثم تفحص تحت المجهر ، حيث ستعطي نتائج إيجابية جداً .

2) التعويم –الطفي– Flotation :

بالمقارنة مع طريقة الترسيب والتي ينتج عنها رسوب الطفيليات والتي تكون أثقل من البكتيريا ، والطعام غير المهضوم الموجود في البراز ، فإن الطفيليات ترسب في قاع الحاوية ، ولكن طريقة التعويم هنا يمكن أن تستعمل لعزل المواد الخفيفة من طفيليات

وبيوض الديدان التي تطفو على السطح مقارنة مع ثقل المواد الأخرى الموجودة في عينة البراز ، وكذلك يشترط في تحقيق هذه الطريقة خفة وزن الأوليات والبيوض بالمقارنة مع المواد الأخرى بأخذ الطافي وتفحصه تحت المجهر بعد عملية التركيز التي تمت من خلال عملية التعويم ، تستعمل هذه الطريقة في تركيز بيوض بعض الديدان الموجودة بأعداد قليلة في العينة ، يمكن استعمال محلول ملح الطعام ، والذي تقدر كثافته النوعية بـ 1.2 Sp-gr ، لذلك سيكون عزل البيوض المعوية أسهل بكثير من فحص العينة مباشرة (مفيدة جداً في Ascaris & Trichurus) .

3) Centrifugal - Flotation : التعويم بالطرد المركزي

تُؤخذ عينة البراز وتذاب في 10 أضعافها من الماء ، وتُصفى خلال شاش طبي ، وتوضع في أنبوب اللف ، وتلف في الجهاز عشر مرات ، حتى يُصبح الطافي صافياً ، وفي المرة الأخيرة من اللف يُتخلص من الطافي ، ويُضاف ماء نظيف ويُمزج مع الراسب ، ثم يُلف على جهاز الطرد المركزي ، وبعد إتمام ذلك تؤخذ بوساطة Wire Loop عبوة من السطح وتوضع على الشريحة ، ويوضع فوقها غطاء الشريحة ، وتفحص تحت المجهر .

التحضير الملون الدائم

Preserved Stained Film

عندما يحفظ البراز في طريقة Merthiolate-Iodine-Formaldehyde-MIF تنقل قطرة أو قطرتان من المعلق المحرك جيداً والمكون من العينة في المحلول السابق الذكر إلى شريحة زجاجية نظفية ، ويغطى بغطاء الشريحة ويفحص . يمكن إعادة تثبيت التحضير على الشريحة في وقت الحصول على العينة باستخدام Polyvinyl alcohol ، ثم تصبغ للفحص في أي وقت مناسب .

يحضر الفيلم الدائم المصبوغ من عينة براز طازجة لدراسة الأوليات المعوية بوساطة تحضير لطخة (Smear) من أجزاء مختلفة ومتعددة من العينة تمثل هذه الأجـزاء أكبر جـزء من العينة ، ثم يعامل هذا التحضير بمثبت سائل قبل جفاف الفيلم على الشريحة مثل محلـول سكودن (Schaudinn's Solution) والـذي يـتركب مـن (محلـول مشبـع مـن كلوريـد الزئبق في الماء المقطر و200 سنتميتراً مكعباً مـن 95٪ كحـول ، ويضـاف إليهـا 10 - 15 سنتميتراً مكعباً من حامض الأستيك المركز) .

ويمكن استخدام طرق كثيرة للصبغ نختار منها واحدة هي :

Faust's Iron - Haematoxylin Stain :

وتتلخص خطوات هذه العملية بما يلي :

1. ثبت اللطخة (Smear) في محلول سكودن المضاف إليه حامض الأستيك المشبع المسخن على درجة 60°م لمدة دقيقتين .
2. أغمر اللطخة (Smear) في 70٪ كحول المضاف إليه كمية من اليود حتى يعطـي لـون النبيذ Part - Wine ، ولمدة دقيقتين .
3. أغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين .
4. أغمر الشريحة في 2٪ محلول الحديد والشبة على درجة 40 مئوية ، ولمدة دقيقتين .
5. أغسل بالماء الجاري لمدة ثلاث دقائق .
6. أصبغ بإضافة 0.5٪ من محلول الهيماتوكسلين Haematoxyline لمدة 10-15 دقيقة .
7. أغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين .
8. أضف محلولاً مشبعاً من حامض البكريك (Picric Acid) لمدة خمس دقائق .
9. أغسل بالماء الجاري لمدة 10 - 15 دقيقة .
10. أغمر الشريحة لمدة دقيقتين على انفراد في كل من 70٪ ، 95٪ ، 100٪ كحول .
11. نظف الشريحة بـ Xylol .

12.أغمر في Xylol - Balsam أو في Clarite أو في Permount .

13.أضف قطرتين Canada Balsam فوق التحضير وغطها بغطاء شريحة ثم اسمح بالجفاف .

زراعة الفضلات لتشخيص يرقات الديدان الخطافية :

إن بيوض الديدان الخطافية والشبيهة بالخطافية ، والتي تخرج مع البراز يصعب التحقق منها بينما اليرقات التي تتطور من هذه البيوض والتي تمثل مرحلة الإصابة يمكن تمييزها والتحقق منها . والمشكلة الشائعة هي التمييز بين الإصابة بـ Ancylostoma والإصابة بـ Nectar ، ويمكن استخدام زراعة أنبوب الإختبار أو زراعة الفحم (Charcoal Culture)، وهذه هي الطريقة المفضلة خاصة للحصول على كميات كبيرة من اليرقات .

وتتلخص طريقة زراعة أنبوب الاختبار بنشر طبقة رقيقة من البراز لطخة (Smear) (1 – 2) ملم على ورقة ترشيح من ذوات الحجم 13 × 120 ملميتراً ، وعلى منتصف ثلثها ، والتي بدورها توضع في أنبوب ترسيب سعة 15 سنتميتراً مكعباً حيث يكون محتوياً على 3 سنتميتراً مكعباً من الماء المقطر .

ويحتفظ بذلك على درجة حرارة الغرفة (24 – 28) درجة مئوية ، وفي الظلام ولمدة 7 – 10 أيام ، ويضاف الماء يومياً وحسب الحاجة بحيث يبقى مستوى الماء فوق نهاية قاع الورقة .

إن الانتقال الشعري للماء باتجاه الأعلى خلال الورقة ولطخة الفضلات أو البراز يحفظ البراز رطباً ويحمل العناصر الذائبة من البراز إلى الجزء العلوي من الورقة وبعد تكون طور اليرقة ، تنتقل اليرقة إلى الماء ، حيث يمكن مشاهدتها بوساطة العدسة اليدوية ، ويمكن أخذها بوساطة الماصة ،وفحصها مجهرياً ولكن هذه الطريقة غير دقيقة .

أما طريقة زراعة الفحم (Charcoal Culture) ، فتتلخص بمزج جيد لوحدة واحدة من البراز اللين أو الملين بالماء مع 5 – 10 وحدات من الفحم الأسود الحيواني (على شكل حبيبات ناعمة) ويحفظ الخليط في حاوية بغطاء ، وإذا كان الخليط محتوياً على ماء زائد فيجب إزالته ، وبعد 7 – 10 أيام يكون طور اليرقة قد تطور وتتحرك اليرقات إلى السطح ، حيث يمكن اخذها بسهولة ، ثم تحضر قطعة قماش قطنية مكونة من 12 – 15 ثنية رقيقة لتناسب حاوية الزراعة ثم ترطب بالماء الدافئ ، ويضغط على سطح الزراعة ، ويعاد الغطاء ، وتنتقل معظم اليرقات إلى قطعة القماش خلال ثلاثين دقيقة ، وبعد ذلك تؤخذ قطعة القماش بملقط وتقلب رأساً على عقب في قارورة ترسيب مملوءة بالماء الدافئ، وتسقط اليرقات إلى القاع ، بينما يبقى الفحم متعلقاً بالقماش ، يمكن لمعظم اليرقات أن تؤخذ بعد 20 دقيقة بوساطة الماصة .

- الكشط والمسحات الشرجية Anal Scrapinge and Swabs :

يمكن تشخيص الإصابة بالأميبا في الجلد خاصة في المنطقة التي تسبق الفتحة الشرجية بكشط المواد الموجودة في القرحة المشتبه بها ، ووضع هذه المواد على شريحة محتوية على قطرة أو قطرتين من المحلول الملحي ، وتغطى بغطاء الشريحة ، ثم تشاهد تحت المجهر لرؤية الخلايا المتحركة من *E. histolytica* (الطور التكاثري Trophozoite) .

وأول ما أجريت هذه العملية كانت لمشاهدة بيوض الدودة الدبوسية *Enterobius vermocularis* ، ويمكن استعمال المسحات الشرجية لمشاهدة هذه البيوض باستخدام شريط لاصق يوضع على الشريحة الزجاجية ، وقد استخدمت هذه الطرق لعزل بيوض ديدان أخرى مثل الديدان الشريطية والبلهارسيا .

يمكن فحص هذه المواد للحصول على دلائل تشخيصية للإصابة بالديزنطاريا الأميبية أو الزحار الأميبي خاصة عندما تكون نتائج الفحوصات الروتينية للبراز سلبية .

وما تزال الأعراض السريرية تؤيد الاشتباه بوجود (الزحـار) الديزنطاريـا الأميبيـة ولتحقيـق ذلك يمكن استخدام الشربة على شكل محلول ملحي مثل كبريتات المغنيسيوم، أو كبيريتات الصوديوم أو فوسفات الصودا ، وهي المفضلة لإخراج الأميبا المتحركـة ، ودون أن يحـدث أي تغير لها ، ولنجاح التشخيص يجب فحص العينة وهي طازجة وذلك بوضـع عينـة محتويـة على مخاط على شريحة زجاجية ومشاهدتها تحت المجهر لتشخيص حركة الـ *E. histolytica* ، ويجب تمييزها عن غيرها من الأميبا المعوية غير الضارة ، وكذلك الحال تعـامل المـواد الناتجـة من الحقنة الشرجية .

فحص البول Examination of Urine :

يمكـن مشـاهدة *T. vaginalis* في بـول الأنثـى والذكـر المصـابين بعـد ترسـيبه ، ولكن نادراً ما يمكن مشـاهدة الطـور التكـاثري في الـ *E. histolytica* في بـول الإنسـان المصـاب بالديزنطاريا . في الجهـاز التناسـلي - البـولي يعتـبر البـول مكـان وجـود بيـوض *S. haematobium* ، فيمكن جمع عينة البول في زجاجة خاصـة ، ويسـمح للبيـوض بـأن ترسب مع كريات الدم الحمراء والبيضاء ، ويؤخذ الراسب ويوضع على شريحة زجاجيـة ، وتفحص مجهرياً ، في بعض الحالات يمكـن وجـود Microfilariae في البـول ، ونـادراً مـا توجد يرقات *Strongyloides* فيه .

فحص البلغم Examination of Sputum :

في حالة الإصابة بالأميبا الرئوية ، يؤدي تفجر التقيح الأميبي في الشعب الهوائية إلى السعال ، مما ينتج عنه إخراج المحتوى مع الدم والمخاط وخلايا النسيج الميتة ، وكذلك طور الحركة في الـ *E. histolytica* ، وبالمثل فـإن تفجـير الحوصـلات المائيـة الرئويـة يـؤدي إلى خروج محتوياتها وأجزاء من غشاء وطبقـات الحوصلة ، وكذلـك يحـدث في حالـة الإصابة بـ *E. granulosus* . يعتبر البلغم أهم إفراز يمكن أن يحمل الديدان المثقبية مـن الرئيتـين ،

وأحياناً يمكن ظهور بيوض مثقبيات الدم أو يرقات Strongyliodes في مادة السعال (البلغم) .

تقنيات فحص الدم Haematologic examination technics :

يعتبر الدم وسطاً جيداً لتطور كثير من الطفيليات الحيوانية ، فمنه يمكن تشخيص حالات الملاريا والتربنوسوما الإفريقية – والفيلاريا ، ونادراً حالات الكالا – آزار والإصابة بالتكسوبلازما (Toxoplasmosis) .

فحص فيلم الدم الرقيق Examination of thin blood film :

التحضير :

1. خذ قطرة دم صغيرة من رأس الإصبع وضعها على شريحة زجاجية نظيفة .
2. أنشرها بشكل متناسق على الشريحة بوساطة شريحة أخرى تلامس قطرة الدم ، وبزاوية 45 درجة بحيث ينتهي فيلم الدم بطبقة رقيقة قبل نهاية الشريحة . وعند نهاية نشر الدم على الشريحة فإنه سيتشكل ذيول .
3. جفف الفيلم في الهواء ، وضع علامة عليه بقلم رصاص أو ابرة .

الصبغ :

بوساطة صبغة ليشمان Leishman's Stain

1. أضف صبغة ليشمان على الشريحة ، ولمدة 30 ثانية .
2. خفف الصبغة بكمية مضاعفة من الماء المقطر على الشريحة ، وانتظر لمدة 10–15 دقيقة .
3. أغسل الشريحة تحت ماء الحنفية الهادئ ويمكن تنظيف قاع الشريحة بالمسح بالإصبع .

4. أبق الشريحة في وضع مائل حتى تجف تماماً .
5. يمكن فحص الشريحة الجافة بإضافة قطرة زيت تحت المجهر باستخدام العدسة الزيتية .

الصبغ : بوساطة صبغة جيمسا Giemsa's

1. ثبت الفيلم أولاً بإضافة الميثانول أو الإيثانول ولمدة 3 – 5 دقائق ، ثم جفف الشريحة .
2. يمكن تخفيف الصبغة بإضافة قطرة من الصبغة إلى كل واحد مللتر من الماء المقطر .
3. أضف الصبغة المخففة إلى الشريحة وانتظر 30 – 45 دقيقة .
4. أغسل الشريحة تحت ماء الحنفية الهادئ ، وبعد ذلك جففها .
5. إفحص الشريحة تحت المجهر مستخدماً العدسة الزيتية .

فحص فيلم الدم السميك Examintion of thick blood film :

التحضير :

ضع قطرة دم كبيرة على طرف الشريحة ، وانشر إما بإبرة أو بطرف أو بزاوية شريحة أخرى ، ويكون سمك الفيلم لدرجة إمكانية رؤية الإصبع من تحت الشريحة ، وخلال الدم بعد جفاف الشريحة .

الصبغ :

ويمكن صبغ الشريحة إما باستعمال صبغة جيمسا أو ليشمان أو Field's stain وإذا استعملت الصبغتان الأوليان فيجب إزالة الهيموجلوبين Dehaemoglobinisation قبل البدء في الصبغ ، ويتم ذلك كما يلي :

1. باستخدام خليط من حامض الأستيك النقي المركز ،وحامض الترتريك (Glacial acetic acid & tartarate) تغمر الشريحة بالخليط ، حتى تنتهي عملية إزالة

الهيموجلوبين ، ويستدل على ذلك بتغير اللون الأحمر إلى اللون الشاحب إلى الأبيض ويزال السائل من على الشريحة بتمييلها ، ثم يثبت الفيلم باستعمال الميثانول لمدة 3 – 5 دقائق . وتغسل الشريحة بماء مقطر قاعدي خفيف حتى يزال كل أثر للحامض .

2. تغمر الشريحة بالماء المقطر ولمدة 5 – 10 دقائق في قارورة زجاجية . وبعد إزالة الهيموجلوبين ، أي يصبح الفيلم أبيض اللون ، تجفف الشريحة ثم تصبغ بصبغة جيمسا أو ليشمان ، ويعامل معاملة الفيلم الرقيق Thin film . يمكن تحضير الخليط من حامض الأستيك والتارتيرك بإضافة 4 وحدات من 2٪ حامض الأستيك مع وحدة واحدة من 2٪ من حامض الترتريك الذي يكون على شكل بلورات .

Field's stain :

هذه طريقة سريعة لصبغ الفيلم السميك للكشف عن الملاريا . وتشتمل الصبغة على محلولين : (أ) و (ب) . يحتفظ بالصبغة في إناء زجاجي ذي رقبة عريضة تسمح بإدخال الشريحة ، وعمق المحلول يكون حوالي 3 إنشات ، ويحافظ على مستواه بإضافة محلول جديد من وقت إلى آخر .

الطريقة :

1. يوضع الفيلم السميك في محلول (أ) لعدة ثوان 1 – 2 ثانية أو حتى يزال الهيموجلوبين ولا يبقى أثر للون الأخضر .
2. تزال الشريحة ، وتوضع في ماء جاري نظيف لعدة ثوان حتى تتوقف الصبغة عن السيلان من الفيلم ، وتصبح الشريحة غير محتوية على أية صبغة .
3. توضع بعد ذلك في محلول (ب) لثانية واحدة .
4. تزال وتوضع في ماء نظيف ولمدة 2 – 3 ثوان .
5. يسمح لها بالجفاف .

فيلم دم رقيق وسميك على شريحة واحدة

Combined thick & thin films on one slide

تستخدم هذه الطريقة في أعمال المسح بصفة خاصة . توضع قطرتان من الدم واحدة تبعد حوالي نصف أنش والثانية أنش واحد عن طرف الشريحة ، فالأولى تستخدم للفيلم السميك والثانية للرقيق .

يزال الهيموجلوبين من الفيلم السميك ثم يصبغ مع الفيلم الرقيق ، ويمكن عمل ذلك كما يلي :

يحدد فاصل بين الفيلمين بقلم الرصاص ، وتضاف الصبغة غير المخففة (ليشمان) فوق الفيلم الرقيق وبعد التخفيف يغمر كذلك الفيلم السميك .

أو أن الجزء الرقيق من الفيلم يثبت بإضافة الميثانول ، وبعد التجفيف تغمر الشريحة بصبغة جيمسا المخففة ولمدة 30 – 60 دقيقة .

فحص الدم للمايكروفيلاريا Examination of Blood for Microfilaria :

تجمع العينة من الدم في الصباح وتوضع قطرتان أو ثلاث قطرات من الدم على شريحة زجاجية نظيفة ، وتغطى بغطاء الشريحة . ولمنع الجفاف تغلق حواف الغطاء باستخدام الفازلين ، وتحفظ الشريحة لمدة يوم ، وتفحص بعد ذلك تحت المجهر وعلى عدسة التكبير المنخفض ، وإذا كانت المايكروفيلاريا موجودة فإنها تشاهد بشكل ملتوٍ حيث تستمر حية لمدة 22 – 48 ساعة في هذا النوع من الشرائح .

وإذا أردنا أن نصبغ الشريحة ، فإننا نحضر فيلماً سميكاً على شريحة زجاجية نظيفـة . وبعد ذلك بيوم ، يزال الهيموجلوبين بوضع الشريحة في الماء ، ثـم تجفـف ثـم تثبـت بإضافـة الميثانول ، وتصبغ بعد ذلك إما باستعمال صبغة جيمسا أو ليشمان ، وأحياناً يمكن مشاهدة الميكروفيلاريا في الفيلم الرقيق .

الفحوصات التي تُجرى للتأكد من وجود دم في البراز :

هنـاك نوعـان مـن الـدم قـد يتواجـدان في الـبراز ، همـا : دم مرئـي وهـذا يسـهل تشخيصه بالعين المجردة ، حيث يظهر اللـون الأحمـر علـى العينـة ، ودم غـير مرئـي (خفـي) Occult Blood ، وهـذا يحتـاج إلى فحـص كيميـائي للكشـف عـن وجـوده في العينـة . ولتحقيق ذلك هناك عدة طرق منها :

أ- Orthotolidin test :

وتتلخص خطوات هذا الفحص بما يلي :

1. خذ كمية قليلة من البراز بقدر حبة الفاصوليا ، وأضف عليها 5سم^3 مـن الماء المقطـر ، ثم اغل لمدة خمس دقائق .
2. حضر 4٪ من محلول Stock orth. وذلك بإذابة 4 جرامات مـن الـ Orthotolidin في 100سـم^3 مـن 95٪ إيثـانول ، وللاسـتعمال يحضـر حجـم واحـد مـن هـذا المحلـول مع 5 أحجام من حامض الخليك الثلجي (Glacial acetic acid) .
3. خذ 1سم^3 من المحلول السابق وأضف 0.25 سم^3 من محلول فوق أكسيد الهيدروجين .
4. إخلط في أنبوب اختبار ثم اقرأ النتيجة بعد 3 دقائق ، تظهر النتجية الإيجابية بلون أخضر داكن ، أما اللون الأخضر الفاتح فيدل على نتية إيجابية ضعيفة .

ملاحظة :

لتجنب حدوث نتيجة إيجابية خاطئة يجب على المريض عدم تناول اللحوم لمدة ثلاثة أيام قبل الفحص ، وكذلك عدم تناول أقراص الأسبرين .

ب- Haematest tablet test :

تحتوي هذه الأقراص على **Strontium Peroxide + Orthotolidin** ويتكون لون أزرق عند تماس القرص الرطب مع البراز الذي يحتوي على الدم . تحضر اللطخة الرقيقة الـ **Thin smear** من البراز على الورقة الخاصة بالفحص (مثل ورقة الترشيح) ، وتضاف قطرتان من الماء على القرص ، وتعتبر النتجية إيجابية عندما يتكون لون أزرق واضح خلال دقيقتين ، وإذا تكون لون أزرق فاتح خفيف ، فلا تعتبر النتجية إيجابية .

جـ- Benzidine test :

وهذه التجربة لا يفضل استعمالها ، للاعتقاد بأن مركبات البنزين مواد مسرطنة . حضر لطخة رقيقة **Thin Smear** من البراز على ورقة ترشيح ، ثم أضف إليها عدة قطرات (2 - 3) من محلول البنزدين المشبع (تركيز 100٪) في حامض الخليك الثلجي **Glacial acetic acid** ، ثم أضف إلى الخليط قطرة أو قطرتين من محلول فوق أكسيد الهيدورجين تركيز 30٪ .

تقرأ النتيجة الإيجابية بظهور لون أخضر أو أزرق خلال دقيقة ، وعدم ظهور هذا اللون يكون دلالة على النتيجة السلبية .

Reference المراجع

1. Clinial Laboratory Methods , J.D.Bauer , Ninth edition , 1982 , C.V.Mosby Company .
2. A text book of Bacteriology , R.W.Faibrother , Ninth edition , 1969 Oxford , Heinemann .
3. Microbiology , Davis & Dulbecco & their Collegues , Second edition , 1973 , Harper & Row .
4. Medical Laboratory Tech, , Rophael , Third edition , Saunders .
5. Clinical Diagnosis by Lab. Methods , Davidsson & Henry , Todd-Sanford ,
6. Diagonostic Microbiology , Bailey & Scott , Fourht edition C.V.Mosby Company , 1974 .
7. Review of Med. Microbiology , Ernest Jawetz Joseph L.Melinick & Edward A.Adelberg. 9th ed. , 1970 , Lange Med. pub.
8. Medical Microbiology, Cruickshank, 12th edition,1982 , ELBS .
9. Parasitology protozology & Helminthology . K.D.Chatterjee , 11th ed. , 1977 , Chatt. Med pub.
10. Clinical parasitology , Craig & Fausts , 8th edition , 1976 , Henry Kimpton , London .

11.Ldentification of Med. Bacteria , Cowan & Steels , 2th edition , 1981 , University of Cambridge .

12.Manual of Clinical Mycologh , Conant , Smith , Baker & Callaway , 3rd edition , 1971 , W.B.Saunders .

13.Diagnostic Microbiology , Bailey & Scott. 1994 .

14.Medical Laboratory Sciences Jaurnals 1986 - 1992 .

فهرس

كتب الدار

1. الكتب الطبية

الكيمياء العضوية الحديثة
علم وظائف الأعضاء
تخزين الأدوية وحفظها
أساسيات في طب العيون
بنوك الدم
العلوم العامة
مقدمة في الكيمياء العضوية
علم الأحياء الدقيقة ج2/1
الكيمياء الحيوية
مبادئ الصحة العامة
الإسعاف الأولي
الأحياء الدقيقة / عملي
الدمويات / عملي
الأجهزة الطبية / عملي
الكيمياء التحليلية / عملي
الكيمياء العضوية / عملي
الكيمياء الحيوية / عملي
المناعة والأمصال / عملي
الإدرار والطفيليات / عملي

2. الكتب الهندسية والفنية

الاستشعار عن بعد الهندسة المدنية
المواصفات العامة للأبنية
الهندسة البيئية
تكنولوجيا الخياطة
تصميم الأزياء
تصميم المخططات والخياطة
مبادئ التصميم
مبادئ انتقال الحرارة
تاريخ الفن 1 / 2

3. الكتب التجارية

الإدارة الحديثة
مبادئ الاستثمار
مبادئ الاقتصاد
استراتيجية التسويق
إدارة المبيعات
سلوك المستهلك
مبادئ التسويق
أساسيات الإدارة المالية في القطاع الخاص
محاسبة التكاليف الصناعية
المحاسبة الحكومية
أبعاد التنمية في الوطن العربي
المالية العامة (علوم مصرفية)
المعاملات المالية في الإسلام
التدريبات العملية في التجارة
المحاسبة الأولية
دراسات في محاسبة المنشآت الخاصة
تطبيقات المحاسبية على الحاسوب
أصول المحاسبة 2/1

4. الكتب الإنسانية

الحقائب التدريبية
اللغة العربية
دليل البحث والتقويم التربوي
سيكولوجية الطفولة
الجغرافيا المناخية
دراسات في اللغة والأدب
الطبخ العربي باللغة الإنجليزية
في رحاب محمد (ﷺ) (ديوان شعر)
السياسة الفرنسية تجاه الثورة العربية الكبرى
عالمان مختلفان (الرجل والمرأة)
علم الاجتماع السياسي
(قضايا الحرب والعنف والسلام)

5. كتب الكمبيوتر

الكمبيوتر وتطبيقاته
البرمجة بلغة التجميع جـ2/1
تركيب البيانات
معالجة النصوص
نظم تشغيل إنجليزي
البرمجة الهيكلية بلغة باسكال



دار المستقبل للنشر والتوزيع

لصاحبها فهيم سعيد مجدلاوي

تأسست عام 1984

==========================

تعنى بطباعة ونشر الكتب العلمية

المؤلفة والمترجمة مساهمة منها في تعريب الكتاب الجامعي المتخصص

==

عضو في اتحاد الناشرين الأردنيين

عضو في اتحاد الناشرين العـرب

تم صف وإخراج

ومونتاج

الكتاب

على

جهاز الكمبيوتر

IBM

الخاص بالدار